Série A, N° 3838
N° d'Ordre
4689

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Arlette JACOB

PREMIÈRE THÈSE

Recherches sur les conditions d'action immédiate de la Thyroxine sur les oxydations des tissus in vitro.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le 28 FEV. 1962 devant la Commission d'examen

M^lle^ LE BRETON — *Présidente*

MM. LENDER, ACHER — *Examinateurs*

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41538119_0007

Série A, N° 3838
N° d'Ordre
4689

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Arlette JACOB

PREMIÈRE THÈSE

Recherches sur les conditions d'action immédiate de la Thyroxine sur les oxydations des tissus in vitro.

DEUXIÈME THÈSE

Propositions données par la Faculté

Soutenues le devant la Commission d'examen

M^lle^ LE BRETON *Présidente*

MM. LENDER, ACHER *Examinateurs*

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

(Janvier 1962)

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

PROFESSEURS

DOYEN ..... M. ZAMANSKY

G. JULIA	T	Anaylse supérieure et Algèbre supér.
DE BROGLIE	T	Théories physiques
PRENANT	T	Anatomie et Histologie comparées
PERES	T	Mécanique des fluides et applications
GRASSE	T	Evolution des êtres organisés
PREVOST	T	Chimie organique
CHAUDRON	T	Chimie appliquée
WYART	T	Minéralogie et Cristallographie
TEISSIER	T	Zoologie
MANGENOT	T	Biologie Végétale (ORSAY)
AUGER	T	Physique quantique et Relativité
MONNIER	T	Physiologie générale
PIVETEAU	T	Paléontologie
ROCARD	T	Physique (E.N.S.)
CARTAN	T	Mathématiques (E.N.S.)
LAFFITTE	T	Chimie générale
FAVARD	T	Géométrie supérieure
COULOMB	T	Physique du Globe
Mlle COUSIN	T	Biologie Animale (S.P.C.N.)
CHRETIEN	T	Chimie minérale
DRACH	T	Zoologie
KASTLER	T	Physique (E.N.S.)
EPHRUSSI	T	Génétique
RIVIERE	T	Géologie S.P.C.N. et sédim.
GAUTHERET	T	Biologie Végétale (P.C.B.)
LUCAS R.	T	Recherches physiques
THOMAS A.	T	Biologie cellulaire
ARNULF	T	Optique appliquée
MORAND	T	Physique Enseignement
SOLEILLET	T	Physique (P.C.B.)
FORTIER	T	Mécanique expérimentale des Fluides
DANJON	T	Astronomie
PETIT	T	Biologie maritime
QUENEY	T	Météorologie et dynamique atmosphér.
GALLIEN	T	Embryologie
EICHHORN	T	Botanique
DE CUGNAC	T	Biologie végétale (S.P.C.N.)
Mlle CAUCHOIS	T	Chimie Physique
THELLIER	T	Physique du Globe
L'HERITIER	T	Biologie générale (ORSAY)
GRIVET	T	Radioélectricité (ORSAY)
PONCIN	T	Mécanique générale
DUBREIL	T	Arithmétique et théorie des Nombres
QUELET	T	Chimie organique
CAGNIARD	T	Géophysique appliquée
CHAMPETIER	T	Chimie macromoléculaire
CUVILLIER	T	Micropaléontologie
JUNG	T	Pétrographie
TRILLAT	T	Microscopie et diffraction électronique
WIEMANN	T	Chimie organique et struct.
JACQUINOT	T	Spectroscopie et Phys. céleste (ORSAY)
VASSY	T	Physique de l'Atmosphère
DESTOUCHES	T	Théories physiques
AMIEL	T	Chimie générale
HOCART	T	Minéralogie et Cristallographie
J.-P. MATHIEU	T	Physique (Optique)
COUTEAUX	T	Biologie animale (P.C.B.).
MAY	T	Zoologie (ORSAY)
CHOQUET	T	Théorie des fonctions et Topologie
FELDMANN	T	Biologie végétale marine
GUINIER	T	Physique des Solides (ORSAY)
JOST	T	Physiologie comparée
FORTET	T	Calcul des Probabilités et Phys. math
SCHWARTZ	T	Calcul différentiel et intégral
CHOUARD	T	Physiologie végétale
MALAVARD	T	Aviation (Techn. aéronaut.)
BRELOT	T	Calcul différentiel et intégral
NORMANT	T	Synthèse organique générale
BENARD	T	Chimie minérale
BUVAT	T	Botanique (E.N.S.)
DUGUE	T	Statistiques mathématiques
SOULAIRAC	T	Psychophysiologie
ULRICH	T	Physiologie végétale
MARECHAL	T	Optique théorique et appliquée
KIRRMANN	T	Théories chimiques
CHADEFAUD	T	Botanique
Mlle LE BRETON	T	Physiologie de la nutrition
SALEM	T	Mathématiques générales
LELONG	T	Application de l'analyse à la géométrie
DEVILLERS	T	Anatomie et Histologie comparées
EHRESMANN	T	Topologie algébrique
FRANÇON	T	Physique (S.P.C.N.)
GLANGEAUD	T	Géographie phys. et Géologie dynam.
GODEMENT	T	Mathématiques (M.P.C.)
PISOT	T	Technique mathématique de la Physique
ROCH	T	Géologie
SCHATZMAN	T	Astrophysique
TERMIER	T	Paléontologie stratigraphique
ZAMANSKY	T	Mathématiques générales
LENNUIER	T	Physique (M.G.P.)
RIZET	T	Génétique (ORSAY)
ROUTHIER	T	Géologie appliquée
Mme TONNELAT	T	Physique théorique
DIXMIER	T	Mathématiques (M.P.C.)
SOUCHAY	T	Chimie générale
AIGRAIN	T	Electrotechnique générale
BRUSSET	T	Chimie systématique
M. LEVY	T	Physique théorique des hautes énergies (ORSAY)
Mme CHAIX	T	Chimie biologique

Mme HUREL-PY		Biologie végétale (P.C.B.)
IAUX	T	Chimie (M.P.C.)
RUN	T	Mécanique théorique des Fluides
EDERER	T	Chimie biologique
Mme DUBREIL	T	Mathématique (Agrégation)
Mme LELONG	T	Mathématiques (E.N.S.)
BELLAIR	T	Géologie (S.P.C.N.)
COTTE	T	Physique électricité
DUBOIS J.-E.	T	Chimie organique
LAMOTTE	T	Zoologie (E.N.S.)
MICHEL A.	T	Chimie minérale (ORSAY)
OLMER	T	Energétique générale
ROUAULT	T	Electricité (ORSAY)
GAUTHIER	T	Mécanique appliquée
BARCHEWITZ	T	Chimie physique
BROSSEL	T	Physique atomique
BUSER		Physiologie comparée
CAMUS		Physiologie végétale B.M.P.V.
CASTAING	T	Physique (ORSAY)
CURIEN	T	Minéralogie et Cristallographie
MOYSE	T	Physiologie végétale (ORSAY)
NOIROT		Evolution des êtres organiques
PANNETIER	T	Chimie générale (ORSAY)
POSSOMPES	T	Zoologie
PULLMANN	T	Chimie théorique
TEILLAC	T	Physique nucléaire et Radioactivité
TONNELAT	T	Biologie physico-chimique
VILLE	T	Econométrie
WILLEMART		Chimie (P.C.B.
DODE	T	Chimie (ORSAY)
FREYMANN	T	Recherches physiques
GUINOCHET	T	Biologie végétale S.P.C.N. (ORSAY)
ROLLET	T	Chimie (P.C.B.)
Mlle JOSIEN	T	Chimie S.P.C.N.
CHEVALLEY	T	Géométrie algébrique et Théorie des Groupes
ARNOULT	T	Electronique (ORSAY)
CHAPELLE	T	Physique (ORSAY)
DELANGE	T	Mathématiques (ORSAY)
DENY	T	Mathématiques générales (ORSAY)
GERMAIN	T	Mécanique théorique des Fluides
LUCAS G.	T	Géologie
ALLARD	T	Chimie physique
BERTHELOT	T	Physique fondamentale des Hautes Energies (ORSAY)
BRICART	T	Météorologie et Physique de l'Atmosph.
Mme ALBE-FESSARD		Psychophysiologie
FRIEDEL		Physique des Solides (ORSAY)
M. JULIA		Etudes des Moléculaires naturelles complexes
LENDER	T	Biol. animale (S.P.C.N.) (ORSAY)
MAGAT		Physico-chimie des Radio-Eléments
Mlle QUINTIN	T	Electrochimie
MONOD	T	Chimie du métabolisme
BENOIT	T	Physiologie animale (ORSAY)
DE POSSEL	T	Analyse numérique
CHARLOT	T	Chimie analytique
HAISSINSKY	T	Radiochimie
LEMEE	T	Physiologie végét. (B.M.P.V.) (ORSAY)
GUERIN	T	Chimie (M.P.C.) (ORSAY)
CHATELET M.		Chimie (P.C.B.)
JEAN	T	Physique nucléaire (ORSAY)
MATTLER	T	Physique (S.P.C.N.) (ORSAY)
MICHEL L.		Physique théorique des Hautes Energies (ORSAY)
BERGERARD		Zoologie (ORSAY)
BERTEIN		Electronique (ORSAY)
BOUISSIERES		Chimie des Radioéléments (ORSAY)
Mme COUTURE		Thermodynamique et Mécan. physique
ELLENBERGER		Géologie appl. sur le terr.
FRANC		Biologie animale (P.C.B.)
SCHNELL		Botanique tropicale (ORSAY)
STOLKOWSKI		Physiologie générale
ACHER		Chimie biologique (ORSAY)
BAUDOIN		Biologie animale (P.C.B.)
BEAUMONT		Biologie animale (S.P.C.N.)
BLAMONT		Géophysique Ionosphère
BOURREAU		Botanique
CURIE D.		Physique (M.G.P.)
DURAND-DELGA		Géologie
FREON	T	Chimie organique (ORSAY)
HELLER		Physiologie végétale
TORTRAT		Calcul des Probabilités
CAILLEUX		Géologie (S.P.C.N.)
MAGNAN	T	Physique (S.P.C.N.)
DAUDEL	T	Mécanique ondulatoire appliquée à la Chimie théor. et à la Phys. nucléaire
Mlle FOURCROY		Biologie végétale (S.P.C.N.)
Mme CHOQUET-BRUHAT	T	Méc. analytique et Méc. céleste
Mlle VEIL		Physiologie générale
LWOFF	T	Microbiologie
SIESTRUNCK	T	Mécan. physique et expérimentale.
LACOMBE	T	Métallurgie des métaux nucléaires
BROCHARD	T	Physique (P.C.B.) (ORSAY)
CABANNES	T	Mécanique générale
LESIEUR	T	Mathématiques (M.P.C.) (ORSAY)
MAZET	T	Mécanique générale (ORSAY)
CAIRE		Géographie physique et Géologie dyn.
COMOLET		Mécanique des Fluides
CORABŒUF		Physiologie animale
DELLOUE		Physique de l'Exosphère
GORENFLOT		Botanique II (ORSAY)
HOUILLON		Biologie animale (P.C.B.)
JULLIEN J.		Chimie (P.C.B.)
MALGRANGE		Technique mathématique de la Phys.
OLIVIER		Anthropologie
NOZERAN	T	Botanique II (ORSAY)
BLANC-LAPIERRE		Physique (E.N.S.) (ORSAY)

SECRETAIRE GENERAL ..... R. POULLAIN

Ce travail a été poursuivi au Centre de Recherches sur la Cellule Normale et Cancéreuse, dirigé par Mademoiselle LE BRETON, Professeur à la Faculté des Sciences.

J'exprime ma profonde reconnaissance et mon affectueux attachement à Mademoiselle LE BRETON, qui m'a initiée à la recherche et m'a permis de mener à bien ce travail grâce à ses conseils.

Monsieur LENDER, Professeur à la Faculté des Sciences, a bien voulu accepter de faire partie de mon jury. Je lui en suis reconnaissante.

Monsieur ACHER, Professeur à la Faculté des Sciences, a bien voulu s'intéresser à mon travail et me faire d'utiles suggestions. Je lui exprime ma vive gratitude.

Que tous mes collègues et le personnel du laboratoire qui m'ont aidée dans la réalisation de ce travail trouvent ici l'expression de mon amicale gratitude.

Je remercie plus particulièrement Madame E. CHANY et Monsieur Ch. FRAYSSINET qui ont bien voulu faire les surrénalectomies et les éthyroïdies, et Mademoiselle M.C. GORENSKY dont la collaboration m'a été précieuse.

Monsieur LE VAN HUNG nous a communiqué plusieurs de ses résultats expérimentaux dont nous faisons état dans nos discussions ; nous lui exprimons nos remerciements amicaux.

Je tiens à remercier également Mesdemoiselles BOULLERY et LAURENT qui ont, avec beaucoup de gentillesse, assuré la présentation matérielle de ce mémoire.

RECHERCHES SUR LES CONDITIONS D'ACTION IMMEDIATE DE LA THYROXINE SUR LES OXYDATIONS DES TISSUS IN VITRO

TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION 1

OBJET DU TRAVAIL 4

1ère Partie - EXPOSE CRITIQUE DES TRAVAUX ANTERIEURS CONCERNANT L'AUGMENTATION DES OXYDATIONS SOUS L'INFLUENCE DE L'HORMONE THYROIDIENNE 7-23

Chapitre I - ACTION DE T_4 SUR LES OXYDATIONS

I - Action sur le métabolisme basal des homéothermes

II - Action sur les oxydations au niveau des tissus

1 - après administration de T_4 à l'animal

2 - après addition de T_4 au milieu d'incubation

Chapitre II - RECHERCHES SUR L'EXISTENCE D'UNE FORME ACTIVE DE L'HORMONE

I - La 3:5:3'-T_3 est-elle la forme directement active

II - Recherches concernant Triac et Tétrac

1 - expériences in vivo

2 - expériences in vitro

Conclusion

Chapitre III - ESSAI D'ACTIVATION DE T_4 IN VITRO

2ème Partie - RECHERCHES PERSONNELLES SUR LA MISE EN EVIDENCE D'UNE ACTION IMMEDIATE DE T_4 SUR LES OXYDATIONS DES TISSUS "IN VITRO" 25-43

- Introduction

Chapitre 1 - METHODES ET TECHNIQUES

I - Animaux

II - Régimes

III - Solutions et produits utilisés

IV - Mode opératoire

Préparation des Mitochondries

Chapitre II - MISE EN EVIDENCE DE L'ACTION IMMEDIATE DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE, IN VITRO

I - Homogénats

- conditions expérimentales
- résultats

II - Coupes de tissus

- conditions expérimentales
- résultats
- conclusion

3 ème Partie - INFLUENCE DE QUELQUES FACTEURS PHYSIOLOGIQUES SUR L'ACTION IMMEDIATE DE T_4 SUR LES OXYDATIONS DU TISSU HEPATIQUE IN VITRO 44-64

Chapitre I - INFLUENCE DE L'AGE

I - Action de T_4 sur les tissus des animaux en fonction de l'âge

- cas des rats âgés de 7 semaines
- cas des rats âgés de 2 mois à 12 mois

II - Conclusion

Chapitre II - INFLUENCE DU SEXE

Résultats

Chapitre III - INFLUENCE DE QUELQUES SECRETIONS HORMONALES

I - Influence de l'éthyroïdie

II - Influence de l'hypophysectomie

III - Influence de la surrénalectomie

Chapitre IV - CONCLUSIONS DE LA 3ème PARTIE

4 ème Partie - INFLUENCE DES CONDITIONS NUTRITIONNELLES SUR L'ACTION IMMEDIATE DE T_4 SUR LES OXYDATIONS DU TISSU HEPATIQUE IN VITRO 64-104

Chapitre I - COMPOSITION DES REGIMES ETUDIES

Chapitre II - ROLE DE LA NIACINAMIDE ET DE L'ACIDE PANTOTHENIQUE

Résultats expérimentaux

Effet de la réalimentation au régime témoin X_0 après ingestion du régime hypovitaminique HV

Discussion

Mise en évidence de la nécessité de CoA pour l'action de T_4

Chapitre III - ROLE DES LIPIDES

Résultats expérimentaux

1 - Régime hypolipidique

2 - Régime lipidoprive

Chapitre IV - ROLE DE LA TENEUR EN PROTEINES

Conditions expérimentales

1. - Action du régime hypoprotéique L_{24} (8 % protéines)

a - Cas des animaux soumis au régime L_{24} après avoir ingéré le régime standard X_0 jusqu'à 6 mois

b - Cas des animaux soumis au régime

L_{24} dès le sevrage

Discussion

II-Action du régime hypoprotéique L_{25}

(5 % de protéines)

Résultats expérimentaux

Discussion

Chapitre V - CONCLUSIONS DE LA 4ème PARTIE

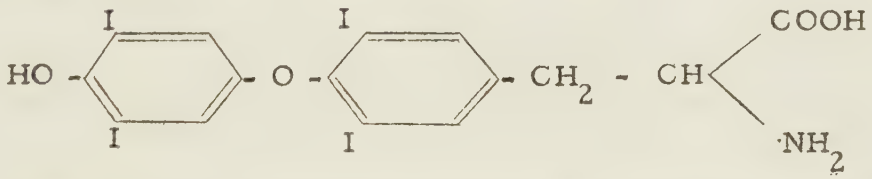
RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES 104

Principales abréviations utilisées.

MB	Métabolisme basal
T_4	Thyroxine
T_4A	Tétrac ou acide tétraiodothyroacétique
T_3	Triiodothyronine
T_3A	Triac ou acide triiodothyroacétique
HT	Hormones thyroïdiennes
CoA	Coenzyme A
PAB	Acide p-amino benzoïque
DPN	Coenzyme 1 ou diphosphopyridine nucléotide

INTRODUCTION

Dès 1882, les frères REVERDIN (85) attribuaient une fonction endocrine à la thyroïde, fait confirmé par MURRAY en 1892. En 1915, KENDALL (46) isolait l'hormone à l'état cristallisé, mais sa formule ne devait être établie que 12 ans plus tard par HARINGTON et BARGER (40). La Thyroxine est la 3;5:3':5'-tétraiodothyronine.



Depuis 1945, l'emploi de techniques nouvelles (chromatographie, électrophorèse, emploi de radioéléments) a permis de constater la complexité de la sécrétion hormonale, et d'établir que certaines substances iodées, présentes dans la thyroïde, n'étaient que les précurseurs de la Thyroxine. Nous rappellerons brièvement le processus de formation de l'hormone in vivo, à partir de l'iode plasmatique (113).

Cet iode, capté par les cellules épithéliales de la thyroïde sous forme d'iodure, est oxydé en iode moléculaire par des oxydases. La majeure partie est alors fixée dans les follicules thyroïdiens sur une glycoprotéine spécifique : la thyroglobuline. Selon ROCHE (91), 10 à 15 % de cet iode est lié sous forme de monoiodotyrosine (MT) et 30 à 40 % sous forme de diiodotyrosine (DT), aucune de ces substances n'ayant d'activité hormonale ; on trouve 25 % de l'iode sous forme d'iodothyronines, représentant les hormones physiologiques, dont

la majeure partie est formée de 1-3:5:3':5'-tétraiodothyronine (T_4) ; cette dernière est accompagnée de petites quantités de 1-3:5:3'-triiodothyronine (T_3), de 1-3:3':5'-triiodothyronine (T'_3) et de 1-3:3'-diiodothyronine (T_2).

On sait maintenant que la monoiodotyrosine se transforme en diiodotyrosine par iodation, tandis que la condensation de deux molécules de diiodotyrosine avec élimination d'une molécule d'alanine donne naissance à la Thyroxine.

Tous ces dérivés iodés, stockés sous forme de thyroglobuline, sont libérés par action d'une thyroprotéase ; les hormones thyroïdiennes sont déversées dans le courant sanguin, tandis que les iodotyrosines restent dans la thyroïde et entrent à nouveau dans le cycle de la thyroxinogénèse.

Dans le sang, on trouve la Thyroxine et la Triiodothyronine liées à des protéines plasmatiques ; la seconde ne se trouve qu'à l'état de traces, de sorte que la Thyroxine est la forme circulante majeure des hormones thyroïdiennes, ainsi que l'avaient montré TAUROG et CHAIKOFF (100) dès 1948.

La synthèse des hormones thyroïdiennes est maintenant bien connue, les processus de leur dégradation et leurs formes d'élimination sont également bien établis grâce surtout aux belles recherches de ROCHE et coll. Cette dégradation se fait selon plusieurs voies : désiodation, glycuro - et sulfoconjugaison.

La désiodation a été mise en évidence dès 1954 dans le foie (33,64), puis dans le rein et d'autres tissus (49). Ce processus est plus rapide pour T_4 que pour T_3.

La glycuroconjugaison et la sulfoconjugaison , modes d'inactivation classique des hormones au niveau du foie (70) a été observée sur les hormones thyroïdiennes. La glycuroconjugaison a été observée dès 1951 par TAUROG et coll. (101,102) en ce qui concerne T_4, et en 1954 par ROCHE et coll. (88,89) pour T_3. Ce processus n'est pas exclusivement hépatique. Quant à la sulfo-

conjugaison, elle a été mise en évidence par ROCHE et coll. (93, 94) en 1957.

Notons enfin que les iodothyronines, comme tous les acides aminés, subissent au niveau du rein et du foie une désamination oxydative avec formation de leurs dérivés acétiques : T_4A et T_3A. Cette voie métabolique a été particulièrement étudiée par TOMITA et LARDY (48,1), ROCHE et coll. (90, 92).

Mais si les voies de synthèse des hormones thyroïdiennes dans la glande, et leur mode d'élimination au niveau des tissus sont maintenant choses établies, il n'en va pas de même en ce qui concerne le mode d'action de ces hormones au niveau des tissus. Malgré de nombreuses recherches, on ne sait toujours pas si les augmentations des oxydations au niveau des tissus périphériques sont dues à la Thyroxine ou à ses dérivés, car les résultats sont souvent contradictoires.

OBJET DU TRAVAIL

Dès sa découverte, l'action de la Thyroxine sur le métabolisme basal des homéothermes (notamment de l'homme) a été l'objet de recherches étendues. Rapidement, les bioénergéticiens ont assimilé la chute du niveau des oxydations basales à l'hypothyroïdisme, et son augmentation à l'hyperthyroïdisme. Lorsque le métabolisme basal était calculé en tenant compte des divers facteurs permettant de comparer les sujets, les valeurs basses et élevées correspondaient respectivement pour le clinicien au myxoedème ou au goître exophtalmique (maladie de Basedow, de Graves, ou de March).

Cette action sur le métabolisme basal, qui peut être augmenté de 50 % et plus, est évidemment la résultante des augmentations des oxydations au niveau des tissus.

Si actuellement, les auteurs s'accordent à reconnaître que la Thyroxine agit sur les oxydations des cellules des divers tissus, cet accord ne subsiste plus en ce qui concerne les mécanismes présidant à cette augmentation de l'oxydation des divers substrats. On sait de façon classique que la Thyroxine administrée à l'animal ne manifeste son action sur le métabolisme qu'après un temps de latence de plusieurs heures ; ce fait explique que l'hormone ajoutée "in vitro" à des coupes de tissu, reste sans action sur leur consommation d'oxygène. Pour expliquer ce temps de latence, on a invoqué soit les phénomènes de pénétration au travers des membranes, soit la nécessité d'une transformation des hormones circulantes, formes inactives, en dérivés actifs sur les oxydations. Des recherches ont été faites pour en déterminer la nature. Mais, comme nous le verrons, les conclusions des divers auteurs sont souvent contradictoires, et les hypothèses avancées sont, de ce fait, très

discutées. Cependant pour le physiologiste, le mode d'action des hormones reste le problème majeur. La lecture attentive des publications fait apparaître une absence de précisions en ce qui concerne les caractéristiques des animaux-Rats-utilisés (race, âge, sexe etc.), les conditions de vie auxquelles ils sont soumis et notamment le régime alimentaire ; ceci nous a conduit à reprendre le problème du temps de latence et de sa signification.

Rapidement, nous avons observé dans certaines de nos expériences, que la Thyroxine ajoutée au milieu d'incubation augmente immédiatement le niveau des oxydations "in vitro" de coupes ou broyats de tissus.

Dès lors, nous nous sommes attaché à déterminer les conditions à respecter pour observer cette activation immédiate des oxydations par T_4 in vitro, et nous avons pu montrer qu'elle dépend et de facteurs intrinsèques- âge, sexe, état hormonal du Rat- et de facteurs extrinsèques dont le principal est le régime alimentaire auquel l'animal est soumis. Le rôle du régime apparaît comme déterminant, aussi nous sommes-nous efforcé de préciser les constituants qui commandent la réponse du tissu à l'hormone. Ces expériences sont délicates : en effet, les augmentations de la respiration provoquées par l'addition de T_4 in vitro restent inférieures à celles provoquées par injection de T_4 à l'animal avant prélèvement des tissus. En outre, il est difficile de saisir les animaux dans des conditions strictement comparables assurant au niveau du foie (tissu utilisé dans nos recherches) même teneur en certaines protéines-enzymes ou coenzymes, mêmes proportions des substrats oxydés au moment du sacrifice, même niveau des sécrétions hormonales intervenant dans le phénomène, malgré l'observation de conditions définies.

Néanmoins, les expériences nombreuses et variées exposées dans ce mémoire, nous amènent à des conclusions qui renforcent certaines des hypothèses formulées par nos devanciers. Elles expliquent en outre les conclusions contradictoires auxquelles les biologistes aboutissaient à la suite de leurs observations.

Au terme de ce travail, nous pensons avoir apporté la preuve

indiscutable que la Thyroxine doit nécessairement se transformer en une forme active, avant d'agir sur la respiration des tissus.

Dans une prochaine étape, nous nous proposons d'isoler les composés intermédiaires formés lors de cette transformation.

PREMIERE PARTIE

EXPOSE CRITIQUE DES TRAVAUX ANTERIEURS CONCERNANT L'AUGMENTATION DES OXYDATIONS SOUS L'INFLUENCE DE L'HORMONE THYROIDIENNE

CHAPITRE I

ACTION DE LA THYROXINE SUR LES OXYDATIONS

I - ACTION SUR LE METABOLISME BASAL DE L'HOMEOTHERME

Nous ne nous étendrons pas sur les diverses actions de la Thyroxine et aborderons directement l'influence de cette hormone sur les oxydations, seul problème que nous ayons abordé.

L'action sur le métabolisme basal de l'animal, connue depuis longtemps, est primordiale, et intéresse tout particulièrement les physiologistes puisque les modifications du niveau des échanges traduisent des troubles du fonctionnement thyroïdien : le myxoedème ou le goître de BASEDOW, selon qu'il s'agit d'hypo- ou d'hyperfonctionnement de la glande.

Dès 1895, MAGNUS-LEVY (65) observait en effet une diminution des échanges respiratoires dans la maladie de GULL ou myxoedème, et une augmentation de ces échanges dans la maladie de GRAVE ou de BASEDOW. Ce même auteur observait que l'ingestion de thyroïde séchée faisait passer la consommation d'oxygène d'un homme de 2,94 cm^3/kg à 3,5 cm^3/kg, tandis que son poids baissait de 77 à 73 kg.

En 1924, BOOTHBY et SANTIFORD (19) observaient que chez le myxoedémateux dont le métabolisme basal est inférieur de 25 à 40 p. 100 à la normale, l'injection intraveineuse de moins de 1 mg/ jour de Thyroxine suppléait à la sécrétion hormonale déficiente.

En 1928, BENEDICT et MAC LEOD (16) ayant déterminé les conditions de mesure du MB chez le rat albinos (repos, jeûne de 18 heures, température de neutralité thermique) ont constaté que chez cet animal, la thyroïdectomie provoque une chute lente du MB qui, finalement, se stabilise à 70 % de la valeur normale. Notons que chez le myxoedémateux, la chute du MB est aussi de l'ordre de 35p.100 par rapport au métabolisme normal.

Inversement, l'ingestion ou l'injection de l'hormone thyroïdienne augmente le métabolisme basal. Dans tous les cas, que l'injection soit intraveineuse ou sous-cutanée, on observe un temps de latence, variable avec le mode d'injection, et précédant toujours l'augmentation du métabolisme. Lorsque celle-ci est déclenchée, la valeur maximale est atteinte après 12 ou 24 heures, et elle se maintient à ce niveau un temps également fonction de la dose d'hormone. Le retour de cette valeur à celle du MB se fait d'abord assez rapidement, puis il devient très lent et se prolonge pendant plusieurs jours ou semaines. Ceci est en accord avec la courbe de chute du MB observée après ablation de la glande. C'est pourquoi, il faut attendre au moins 3 semaines pour avoir la stabilisation du niveau du MB lorsqu'on travaille sur animaux éthyroïdés.

Nous retiendrons en ce qui concerne notre propre travail, l'existence de ce temps de latence vu par tous, et dont la signification a fait l'objet de discussions que nous avons déjà signalées, et sur lesquelles nous reviendrons au chapitre suivant.

L'influence du mode d'administration de l'hormone est manifeste, ainsi que le montrent les expériences suivantes. BOOTHBY et SANTIFORD (19) avaient observé en 1924, que la Thyroxine est moins efficace lorsqu'elle est ingérée : moins de 1 mg/jour de Thyroxine injectée par voie intraveineuse suffit pour maintenir le MB du myxoedémateux au niveau normal, alors qu'il en faut 1,6 mg/ jour lorsque l'hormone est ingérée. De leur côté, LE BRETON et SCHAEFFER (53) constatent que l'injection de plusieurs petites doses quotidiennes est plus efficace que l'injection d'une seule dose,

même si cette dernière est élevée. Ainsi, chez le lapin adulte, une dose de 1,5 à 2,5 mg/kg augmente le MB de 55 p. 100 environ, tandis que 6 à 8 injections de 0,3 mg/kg/jour augmentent le MB de 70 à 176 p. 100. Ces valeurs sont rapportées au kg d'animal ; si l'on tient compte de la chute de poids (30 p. 100), les oxydations doivent être rapportées à l'animal : elles augmentent alors de 123 p. 100 lorsque l'augmentation est de 176 p. 100 par kg.

Rappelons que durant quelques années, on s'est demandé si l'action de la Thyroxine était indirecte, supposant un relais nerveux ou hormonal, ou au contraire si l'hormone agissait périphériquement sur les oxydations des divers tissus et organes. Seule cette seconde éventualité a été retenue, on a alors examiné si les oxydations de tous les organes étaient augmentées. Les travaux concernant l'action de T_4 sur les oxydations périphériques ont dès l'origine été de deux types :

- ou l'hormone est injectée, puis les tissus prélevés sur les animaux.
- ou l'hormone est ajoutée in vitro au tissu.

Nous allons successivement examiner ces deux types d'expérienc.

II - ACTION SUR LES OXYDATIONS AU NIVEAU DES TISSUS.

1/ Après administration de T_4 à l'animal

En 1924, ROHRER (95) est le premier à observer une augmentation de la respiration du foie, du rein et du muscle chez la souris ayant ingéré de la thyroïde séchée.

En revanche, ANSELMINO et coll. (5) n'observent aucune augmentation de la respiration des coupes de tissu hépatique ou rénal, même 72 heures après injection de 1 mg de Thyroxine à des rats albinos, adultes, nourris de lait, pain et viande. Il faut attendre plus de 72 heures, même après plusieurs injections de 1 mg de T_4, pour observer des augmentations de 11 p. 100 et 22 p. 100 pour la respiration du rein et du foie.

BELASCO (15) observe des augmentations du même ordre sur la respiration des coupes de foie et de rein provenant de rats ayant reçu par injection 0,2 mg Thyroxine /100g/jour pendant 6 jours consécutifs..

Nous avons vu que , lors de l'administration de thyroïde desséchée ou de Thyroxine, l'augmentation du MB ne se manifeste qu'après un certain temps de latence (24 à 48 heures) , puis elle s'amplifie pour atteindre une valeur maximale, se maintenant plusieurs jours, avant de revenir à sa valeur initiale. On ne doit donc pas s'étonner que les auteurs ne constatent une augmentation des oxydations au niveau des divers tissus que si ceux-ci sont prélevés un temps suffisamment long après les injections à l'animal.

En 1944, GORDON et HEMING (32) observent que la respiration du foie et du rein est d'autant plus élevée que l'intervalle de temps écoulé depuis l'injection de l'hormone est plus long. Ces augmentations sont de 37 et 30 p. 100 après 2 jours, 41 et 31 p. 100 après 3 jours, 62 et 38 p. 100 après 4 jours, pour le foie et le rein respectivement.

Puisque l'éthyroïdie provoque une chute du MB de 30 à 35 p. 100, de nombreux expérimentateurs ont pensé pouvoir mieux observer l'action de T_4 en recourant à la comparaison entre les Q_{O_2} de coupes de Rat éthyroïdé ou thyroxiné. C'est ainsi que BARKER et KLITGAARD (7) essaient de déterminer le temps de latence nécessaire à l'observation de l'effet de T_4 sur divers tissus provenant de rats éthyroïdés depuis un mois, et ayant reçu une injection de 6 mg de T_4 par kilo. Les mesures faites en milieu Krebs-Ringer phosphate glucosé, montrent qu'aucun tissu n'a sa respiration modifiée 6 heures après l'injection de l'hormone, il faut attendre 12 heures pour observer des augmentations de la respiration . De plus, le cerveau, la rate et le testicule sont insensibles à l'action de l'hormone. Il nous semble utile de faire remarquer que la dose utilisée par ces auteurs est énorme.

2/ Après addition de la Thyroxine au milieu d'incubation

Ayant observé que l'augmentation du MB due à l'injection de T_4 se répercutait sur le Q_{O_2} de certains tissus (foie, rein, muscle, coeur), il restait à voir si l'hormone ajoutée au milieu où respirent les coupes ou broyats de tissu prélevé sur les animaux normaux, exerçait une action sur le Q_{O_2}. On se heurtait de prime abord, à une objection majeure, puisque l'hormone thyroïdienne n'agit qu'après un certain temps de latence. Toutefois, des recherches ont été entreprises dans ce sens. On peut, dans l'ensemble, considérer deux périodes : l'une avant 1940, l'autre après 1940.

Dans la période s'étendant de 1922 à 1936, il existe un certain nombre d'expériences établissant que T_4, à faible dose, a un effet rapide au niveau tissulaire. Nous y insisterons en raison de l'objet de ce mémoire.

Ces expériences sont faites en milieu Tyrode ou Ringer, en présence de glucose comme substrat, sous air ou sous oxygène pur. La Thyroxine est ajoutée au milieu au moment de la mesure.

En 1928, REINWEIN et SINGER (84) constataient que T_4 augmente de 10 à 40 p. 100 la respiration des coupes de foie, pour des concentrations allant de 10^{-3} à 10^{-11} g/ml, alors que des concentrations plus fortes sont nettement inhibitrices : 10^{-5} g/ml provoque une inhibition de 30 p. 100.

Selon MANSFELD (67), l'addition de 10^{-12} g/ml de Thyroxine au milieu provoque une augmentation du Q_{O_2} de 15 à 40 p. 100.

HAARMAN (36) observe en 1936, une augmentation de la consommation d'oxygène par les broyats de tissu, après addition de 10^{-4} à 10^{-6} g/ml de Thyroxine. Ces augmentations sont de 30 à 40 p. 100 en moyenne, lorsque l'hormone agit sur le muscle ou le foie de rat, lapin, cobaye ou chat. La concentration optimale de l'hormone varie selon le sucre utilisé comme substrat, l'organe considéré, et l'espèce animale étudiée. L'auteur note en outre, que cette action est beaucoup plus nette en hiver.

Enfin, von EULER(26), sur la patte postérieure de chien, isolée et perfusée, montre que pour une concentration de 10^{-10} de T_4, on a une augmentation immédiate de la consommation d'oxygène de 30 p. 100.

Toutes ces expériences sont anciennes, et la plupart des essais faits in vitro depuis 1940 donnent des résultats négatifs lorsque l'on considère l'action de la Thyroxine sur la respiration du tissu hépatique ou rénal, en milieu RINGER ou TYRODE glucosé. On peut donc se demander si les résultats positifs rapportés ci-dessus sont bien dûs à l'hormone elle-même, ou s'ils ne sont pas plutôt le fait d'une impureté accompagnant les préparations de Thyroxine de cette époque. Ceci permettrait d'expliquer les résultats négatifs observés depuis, et que nous allons brièvement résumer.

Dès 1944, GORDON et HEMING (32) observaient que l'addition de Thyroxine 10^{-8} à 10^{-20} M au milieu Tyrode, était sans effet sur la respiration du rein, du foie, ou du muscle.

WISWELL (121) ne constate aucune augmentation de la respiration du tissu hépatique après addition de T_4, à la concentration finale de 3.10^{-5} M.

THIBAULT et PITT-RIVERS (105), WEISS (117) ont les mêmes résultats négatifs sur coupes de rein ou de foie.

DICKENS et SALMONY (22) n'observent aucune action de l'hormone sur la respiration des coupes de rein provenant de rats éthyroïdés.

Enfin, LE BRETON et LE VAN HUNG (55) font les mêmes constatations négatives.

Cependant, WEINSTEIN et LEIN (116) observent qu'après un certain temps de contact avec le milieu additionné de Thyroxine à concentration élevée (2×10^{-5} M), la respiration du diaphragme est augmentée de 20 %.

Conclusion

La plupart des expériences relatées ci-dessus, nous montrent que l'hormone n'agit qu'après un certain temps de latence. Ceci a amené les

expérimentateurs à se demander si la Thyroxine agissait périphériquement comme telle, ou si elle subissait, au niveau des tissus, une transformation en un dérivé directement actif.

CHAPITRE II

RECHERCHES SUR L'EXISTENCE D'UNE FORME ACTIVE DE L'HORMONE

Successivement, la 3:5:3'-triiodothyronine (T_3), puis les dérivés acétiques de la 3:5:3':5'-tétraiodothyronine et de la 3:5:3'-triiodothyronine (Tétrac et Triac) furent considérés comme la forme active de l'hormone.

Nous allons brièvement examiner ces diverses hypothèses, les critiques qui leur ont été faites, et voir ce qui en subsiste à ce jour.

I - LA 3:5:3'-TRIIODOTHYRONINE EST-ELLE LA FORME DIRECTEMENT ACTIVE ?

La T_3 est secrétée par la glande thyroïde, bien qu'en quantité beaucoup plus faible que T_4 (103)

Les faits observés par quelques physiologistes la firent considérer comme la forme active des hormones thyroïdiennes. ASPER et coll. (6) constataient en effet que T_3 agit beaucoup plus rapidement que T_4 sur le MB du myxoedémateux, fait confirmé par LERMAN (58).

En revanche, MAC LAGAN et coll. (63) n'observent pas de différences dans l'action de ces deux corps sur le MB de la souris.

Néanmoins, les physiologistes reconnaissent que si T_3 n'augmente le MB du rat qu'après un certain temps de latence, elle agit à des concentrations moindres que T_4 : l'activité est multipliée par 4 selon HEMING et HOLTKAMP (43), par 5 selon TOMICH et WOOLETT (109).

GROSS, PITT-RIVERS et THIBAULT (34) observent également

que T_3 est 5 fois plus active que T_4 sur le MB des rats éthyroïdés. Fait confirmé par WHALEY , HART et KLITGAARD (118).

Mais selon WEISS (85), l'addition de T_3 au milieu de respiration n'est suivie d'aucune augmentation de la respiration des coupes de foie.

L'ensemble de ces faits semble donc exclure le rôle de T_3 , comme forme active de l'hormone.

De plus, pour affirmer que T_3 est la forme active de l'hormone, il faudrait que la désiodation de T_4 ait lieu à une vitesse suffisante pour représenter un processus important de transformation d'un précurseur inactif en un produit actif.

Or, l'injection de T_4 n'est suivie de la formation de T_3 ni chez les myxoedémateux (51) , ni chez le Rat (25). Et LISSITZKY (62) n'observe aucune désiodation partielle de T_4 en T_3 par les coupes ou homogénats de tissus; lors de la désiodation de T_4 par la T_4 - désiodase purifiée, ce sont même les atomes d'iode occupant les positions 3 et 5 qui sont arrachés les premiers.

Il semble que la différence d'activité biologique observée entre T_3 et T_4 ne soit due qu'à une pénétration plus rapide de T_3 dans les tissus, et non à une activité plus élevée de ce corps.

II - RECHERCHES CONCERNANT LES ACIDES 3:5:3'-TRIIODOTHYROACETIQUE ET 3:5:3':5'-TETRAIODOTHYROACETIQUE (TRIAC et TETRAC)

On a souvent recherché l'action de dérivés de synthèse de la Thyroxine sur les oxydations in vivo et in vitro . Les seuls corps trouvés actifs sur la respiration sont les homologues halogénés de T_4 et T_3 , les activités décroissant lorsque l'on passe des dérivés iodés aux bromés, puis aux chlorés (80).

En 1953, PITT-RIVERS (78) attirait l'attention des physiologistes sur les dérivés acétiques des hormones thyroïdiennes, en réalisant leur

synthèse et en étudiant leur effet sur le MB. Le Tétrac et le Triac semblaient posséder une activité comparable à celle des hormones thyroïdiennes.

Ces dérivés sont d'autant plus intéressants qu'ils apparaissent comme des produits du métabolisme cellulaire de T_4 et de T_3 in vivo. ROCHE et coll. (90) constatent, dès 1955, la présence de Triac dans les reins de Rats éthyroïdés après injection de T_3 marquée. De même, l'injection de T_4 est suivie de la formation de Tétrac (92). Selon ces auteurs, les deux dérivés acétiques se forment par désamination oxydative suivie de décarboxylation.

De leur côté, LARDY et coll. (48, 1), observaient la transformation in vitro des hormones en leurs dérivés acétiques par les homogénats de rein.

Depuis, on a montré que cette transformation se faisait aussi dans le foie, le muscle, le cerveau (31), et l'on a même isolé le système enzymatique responsable de la dégradation de la chaîne alanine en chaîne acétique, dans le rein (110), le foie (2, 123), le coeur et le cerveau.

Lorsque l'on eut constaté que les dérivés acétiques étaient bien des produits du métabolisme, de nombreux biochimistes en essayèrent l'action sur le métabolisme basal, pensant que telle pourrait être la forme active de l'hormone thyroïdienne. Comme dans le cas de la Thyroxine, nous rappellerons brièvement les résultats obtenus sur le MB, puis sur les oxydations tissulaires après injection à l'animal, et addition in vitro. Nous verrons alors si, en l'état actuel des faits, cette hypothèse peut être retenue.

I/Expériences in vivo

Dès 1953, THIBAULT et PITT-RIVERS (106) observaient que le Triac et le Tétrac augmentaient immédiatement le MB de l'animal thyroïdectomisé pour de faibles doses. L'effet est fugace, mais l'emploi de concentrations élevées, de l'ordre de 10^{-5} g/ml, se révèle toxique.

Grâce à un dispositif d'injection continue de solutions extrêment diluées de dérivés acétiques, par voie intraveineuse, THIBAULT (107) obtient des augmentations immédiates, nettes et durables. C'est ainsi que l'injection fractionnée de 6 à 10 µg/jour de Triac durant 3 jours, produit une augmentation immédiate du métabolisme pouvant atteindre 70 p. 100, et ne disparaissant qu'après 11 jours. Depuis, ces conditions optimales n'ont pas été réalisées par les physiologistes qui ont testé l'activité des dérivés acétiques.

En 1960, BISSET et coll. (18) observent qu'après l'injection de 5 mg de Triac, le MB d'un homme myxoedémateux augmente de 42 p. 100 après 390 minutes. Notons que cette dose est 70 fois plus élevée que celle utilisée par THIBAULT, compte tenu des valeurs respectives du MB de l'homme et du rat.

Mais, à ces quelques résultats positifs s'opposent de nombreux résultats négatifs.

BARKER et LEWIS (9, 10) n'observent aucune augmentation immédiate du MB après injection de 1 mg/kg de Triac ou de 2 mg/kg de Tétrac au rat éthyroïdé. Et ils doivent attendre 48 heures avant d'observer une augmentation des oxydations tissulaires.

Selon RALL et coll. (81), le Triac et le Tétrac sont moins efficaces que T_3 et T_4 sur 2 myxoedémateux.

Après injection de 2 mg/kg de Triac ou de 5 mg/kg de Tétrac à des souris, WILKINSON (87) n'observe une augmentation du MB qu'après 10 heures et 24 heures respectivement.

La comparaison des doses utilisées dans ces expériences négatives avec les doses préconisées par THIBAULT permettrait d'expliquer les échecs ci-dessus. Le temps de latence correspondrait, en effet, à l'élimination de l'excès des dérivés acétiques, précédant l'obtention de la dose optimale, non toxique, nécessaire à l'observation d'une action immédiate.

2/ Expériences in vitro

En marge de ces essais in vivo, de nombreux biochimistes ont étudié l'action des dérivés acétiques sur les oxydations in vitro, et là aussi, les résultats furent très divers.

THIBAULT et PITT-RIVERS (79, 106) observent en 1955 l'action immédiate des dérivés acétiques des hormones thyroïdiennes sur la respiration des coupes de rein ou de foie provenant de rats éthyroïdés, à jeun depuis 24 heures. Cet effet est fugace et s'observe pour des concentrations bien définies : 1×10^{-6} g/ml pour le rein et 1×10^{-8} g/ml pour le foie.

Cette action a été retrouvée par quelques expérimentateurs.

En 1955, HEIMBERG et coll. (42) observent une augmentation de la respiration de 10 à 15 p. 100 après addition de 1×10^{-6} g/ml de Triac dans le cas des cellules de tumeur d'ascites.

De leur côté, ALEXANDER et BISSET (3) signalent que $2,5 \times 10^{-6}$ g/ml de Triac augmente de 20 p. 100 la respiration des leucocytes de leucémie myéloïde.

Enfin, SAUNDERS et coll. (97), VAN ZYL et ENGELBRECHT (125), notent l'action positive du Tétrac sur la respiration des coupes de coeur, de foie et de cortex rénal.

Cependant, d'autres expérimentateurs ne parviennent pas à mettre en évidence un effet immédiat des dérivés acétiques.

BARKER et LEWIS (9) n'observent aucune action de Triac ou de Tétrac sur la respiration du foie, du rein ou du coeur, pour les concentrations indiquées par THIBAULT. Dans un travail récent, BARKER (44) confirme ces résultats négatifs.

DICKENS et SALMONY (22), WISWELL et ASPER (122) ne peuvent saisir une action des dérivés acétiques sur la respiration des coupes de rein ou de foie, en milieu Tyrode glucosé.

Dans ces expériences in vitro, il est difficile d'invoquer les concentrations utilisées par les divers auteurs pour expliquer ces résultats

contradictoires, puisque les concentrations, ici, sont du même ordre.

Conclusion

La diversité de ces résultats empêche de considérer comme démontrée l'hypothèse selon laquelle les dérivés acétiques seraient la forme active de l'hormone thyroïdienne. PITT-RIVERS (80) elle-même, devant les faits observés par d'autres auteurs, semble avoir abandonné l'hypothèse qu'elle avait formulée avec O. THIBAULT. Elle soulève des arguments qui "a priori" sont valables.

Il semble en effet difficile d'associer la rapidité de la transformation de T_4 ou T_3 en leurs dérivés thyroacétiques, constatée dans les expériences in vitro (1), avec la durée du temps de latence des hormones thyroïdiennes. Si l'activation consistait en cette simple transformation, on devrait avoir, semble-t-il, des réponses beaucoup plus rapides aux injections des hormones elles-mêmes.

Dès lors, on peut se demander avec BARKER (44) si les dérivés thyroacétiques isolés par ROCHE et coll. (92) LARDY, TOMITA et coll. (48) ne sont pas simplement des produits du catabolisme oxydatif des hormones thyroïdiennes, formés avant leur élimination, ce qu'admettent d'ailleurs ROCHE et coll.

CHAPITRE III

ESSAIS D'ACTIVATION DE LA THYROXINE IN VITRO

Les essais concernant la recherche d'une forme active des hormones thyroïdiennes n'ayant pas donné de résultats concluants, certains biochimistes ont pensé qu'il valait mieux chercher à activer l'hormone in vitro, plutôt que d'étudier l'action d'un dérivé aléatoire, supposé la forme active.

I/ Les premières recherches dans ce sens furent entreprises en 1956, dans le laboratoire de LE BRETON.

Le point de départ en fut une observation faite quelques années auparavant par LE VAN HUNG et DELOST (59). Ces auteurs avaient constaté l'arrêt de la sécrétion de la glande thyroïde chez le Rat ingérant pendant quelques jours 100 mg d'acide p-aminobenzoïque (PAB) ; en revanche, l'ingestion d'acétyl PAB était sans action sur cette sécrétion.

LE BRETON et LE VAN HUNG (55) attribuèrent cette différence de comportement de la glande au fait que le rat ingérant le PAB utilisait au niveau du foie le coenzyme A présent pour acétyler le PAB, tandis que chez le rat ingérant l'acétyl-PAB, le CoA restait disponible. L'arrêt de sécrétion consécutive à l'ingestion du PAB, provenait d'un défaut de l'utilisation des hormones au niveau des tissus, et les auteurs émirent l'hypothèse que le CoA devait intervenir dans cette utilisation périphérique de l'hormone, c'est-à-dire dans son activation.

Ils ont entrepris des expériences en partant de cette hypothèse et ont montré que l'addition de CoA au milieu Tyrode glucosé contenant T_4 ou T_3, augmentait immédiatement la respiration des coupes de rein de 40 à 50 %,

alors qu'en absence de CoA, les hormones étaient pratiquement inactives.

Selon ces auteurs, les hormones seraient transformées en leurs dérivés acétiques qui, par union avec le CoA ajouté en excès, donneraient les esters acétiques du CoA. On aurait les réactions :

(1) $R - CH_2 - CH - NH_2 - COOH \rightleftharpoons R - CH_2 - COOH$

(2) $R - CH_2 - COOH + CoA - SH \longrightarrow R - CH_2 - CO - S - CoA + H_2O$

(R = T_4 ou T_3 sans la chaîne alanine).

LE BRETON et LE VAN HUNG admettent que ces esters tétra ou triiodothyroacétyl CoA seraient responsables de l'augmentation des oxydations, et que leur utilisation immédiate dans la chaîne des oxydations déplacerait l'équilibre de (1) dans le sens de la formation de $R - CH_2 - COOH$. L'injection ou l'addition in vitro de Triac ou de Tétrac serait efficace seulement après union avec le CoA, un excès des deux dérivés acétiques étant toxique.

Tandis que ces auteurs obervaient l'activation immédiate de la Thyroxine in vitro en présence de CoA et de tissu rénal, nous avons observé, en collaboration avec eux, le même phénomène en présence de tissu hépatique (56), ce à quoi l'on pouvait s'attendre puisque les systèmes enzymatiques de désamination et de décarboxylation sont présents dans le foie comme dans le rein (2). La Thyroxine en présence de CoA augmente la respiration des coupes de foie, en milieu Tyrode glucosé, de 60 p. 100 en moyenne.

2/ Dans le même ordre d'idée, FEUER (28) montrait en 1958 que la Thyroxine activée in vitro par acétylation biologique augmentait sans temps de latence, la respiration de l'homogénat de rein, en milieu Tyrode glucosé. L'effet de l'acétylthyroxine est persistant et net, alors que T_4 est inactive. Ainsi selon FEUER, l'acétyl T_4 serait la forme active de la Thyroxine.

A la même époque, FEUER (29) et LE VAN HUNG (61) font indépendamment et simultanément une autre constatation, à savoir l'inhibition de l'acétylation de l'acide p-aminobenzoïque (PAB), en présence de T_4.

LE VAN HUNG observe que l'acétylation du PAB en présence de foie de pigeon et de CoA diminue de 60 p. 100 après adjonction de 30 µg de T_4, tandis que la respiration des coupes est augmentée de 28 p. 100.

Si les deux auteurs sont en accord sur les faits, ils ne le sont pas sur leur interprétation : tandis que LE VAN HUNG attribue la diminution de l'acétylation à une compétition de T_4A et du PAB vis-à-vis du CoA, FEUER l'attribue à une compétition de T_4 et du PAB vis-à-vis de l'acétate. Pour LE VAN HUNG, la Thyroxine au fur et à mesure de sa transformation en dérivé acétique capte le CoA pour donner l'ester, forme active de l'hormone ; pour FEUER, T_4 capte les groupements acétyl et se transforme en acétylthyroxine, forme active de l'hormone selon lui. Cette dernière hypothèse se heurte à une objection puisque LE VAN HUNG (60) a établi formellement que chez le Rat, aucun organe autre que le foie ne possède d'enzyme acétylant. Comme la Thyroxine s'active et dans le foie(où l'acétylation est possible) et dans le rein (où elle ne l'est pas), on est conduit à conclure que la forme active de l'hormone n'est pas l'acétylthyroxine de FEUER.

En revanche, le système enzymatique permettant la désamination oxydative et la décarboxylation de la Thyroxine a été mis en évidence dans le foie et dans le rein, et on a observé la formation du dérivé acétique sur coupes, et mieux encore sur homogénats de rein ou de foie.

L'hypothèse du mécanisme d'activation de la Thyroxine, suggérée par LE BRETON et LE VAN HUNG, nous semblait donc devoir être retenue. Nos recherches viennent apporter des arguments en sa faveur.

DEUXIEME PARTIE

RECHERCHES PERSONNELLES SUR LA MISE EN EVIDENCE D'UNE ACTION IMMEDIATE DE LA THYROXINE SUR LES OXYDATIONS DES TISSUS IN VITRO

INTRODUCTION

On voit, d'après ce qui précède, que la plupart des biochimistes et physiologistes considèrent que la Thyroxine n'est pas la formé active de l'hormone. Ils rejettent également l'idée selon laquelle cette forme active serait, soit la Triiodothyronine, soit les dérivés acétiques T_3A ou T_4A. Ceci explique les essais d'activation in vitro de l'hormone.

Nous avons cependant considéré que les travaux de REINWEIN et SINGER (84) von EULER (26), MANSFELD (67) HAARMAN (36), s'ils étaient sujets à certaines réserves dues, en particulier, à leur ancienneté (année 1930), restaient valables, du moins tant que la question de l'existence d'une forme active de la Thyroxine demeurait posée.

C'est pourquoi, malgré les résultats négatifs obtenus avec T_4 même dans le laboratoire où nous travaillons, nous avons repris complètement ce travail, et étudié l'action de la Thyroxine sur la respiration du tissu hépatique, en milieu Tyrode glucosé.

Mais auparavant, nous voulons exposer pourquoi nous avons choisi ce milieu Tyrode glucosé, de préférence à d'autres milieux.

JUSTIFICATION THEORIQUE DU MILIEU UTILISE

Nous avons à dessein choisi le milieu Tyrode glucosé, sans adddition de coenzymes et activateurs, car il nous permet d'obtenir les niveaux d'oxydation réalisés dans le tissu au moment de la mort de l'animal. Nous mesurons alors "la respiration actuelle", non la "respiration potentielle" des tissus étudiés, ce qui permet de mieux saisir l'effet de l'addition d'un activateur.

Lors d'une étude faite sur la glycolyse, nous avions eu l'occasion de vérifier ce fait. Tandis que la Thyroxine activée par CoA augmente de 300p.100 la glycolyse aérobie des coupes mesurée en milieu Tyrode, l'hormone activée est sans effet sur la glycolyse mesurée en milieu Le Page, milieu dans lequel la glycolyse atteint d'emblée sa valeur maximale. Le simple retrait du DPN au milieu Le Page provoque une baisse de la glycolyse, et permet à la Thyroxine activée de manifester son effet (56, 57).

Comme notre but était de savoir si T_4 était susceptible d'agir sur le niveau des oxydations d'un tissu in vitro, dès son adjonction au milieu, sans temps de latence, il ne fallait donc pas nous placer dans des conditions optimales, quitte par la suite à examiner les milieux complets privés de tel ou tel facteur. C'est pourquoi, nous avons utilisé le milieu Tyrode glucosé afin d'observer un effet net de la Thyroxine sur la respiration.

On sait d'autre part que, dans les divers tissus animaux, la quantité des coenzymes varie, et est fonction de facteurs endogènes (sexe, âge, état hormonal) et exogènes (température, régime). Nous avons donc examiné si les conditions réalisées expérimentalement chez l'animal, étaient susceptibles d'expliquer les faits contradictoires relatés dans notre première partie.

CHAPITRE I

METHODES ET TECHNIQUES

Avant de décrire nos expériences et d'en exposer les résultats, nous indiquerons brièvement nos conditions expérimentales concernant:

- les animaux
- les régimes
- le mode opératoire

I - ANIMAUX

Nous avons utilisé des rats Wistar souche Commentry, nés au laboratoire, et des rats Wag (Gif).

La plupart des expériences ont été faites sur des rats mâles, adultes. Toutefois, nous indiquerons l'âge de l'animal pour chaque expérience.

II - REGIMES

Les animaux étudiés ingèrent soit un régime commercial (Sorolabo) de constitution complèxe, soit un des régimes semi-synthétiques utilisés au laboratoire, régime X_0 de LE BRETON, caractérisé par l'équilibre entre les divers constituants et par sa richesse en vitamines hydrosolubles.

Ces deux régimes ont des compositions nettement différentes.

Le régime "Sorolabo" est constitué de céréales, de tourteaux de poudre de lait écrémé, de farine de viande et de poisson, additionnée de levure de bière, de poudre d'os, de carbonate de calcium, de phosphate bicalcique, de chlorure de sodium, et de quelques vitamines. Il a la formule globale suivante :

- protéines	25 p. 100
- graisses	5 p. 100
- glucides + matières cellulosiques	45 p. 100
- matières minérales	7 p. 100
- p. 100 d'humidité	14 p. 100

Au mélange indiqué, on a ajouté :

$1{,}2 \times 10^6$ UI vit. A)
5×10^5 UI vit. D) pour 100 kg
1 g Riboflavine)

Le régime X_0 est constitué par :

- Caséine	22 p. 100
- Saccharose	58 p. 100
- Saindoux	10 p. 100
- Mélange salin	5 p. 100
- Levure	2,5 p. 100
- Vitamines	2,5 p. 100
- Huile de noix	0,8 p. 100

Le mélange salin introduit dans X_0 est le suivant :

- Chlorure de sodium	950 g
- Phosphate dipotassique	2900 g
- Phosphate monosodique	1400 g
- Phosphate monocalcique	2900 g
- Sulfate de magnésium	1000 g

- lactate ferrique	250 g
- lactate de calcium	600 g
- iodure de potassium	6,50 g
- alun de potassium	1,00 g
- sulfate de manganèse	0,75 g
- fluorure de sodium	0,30 g

Quant au mélange vitaminique il comporte, pour 1 kg de régime :

- acétate de vitamine A	2 mg
- calciférol	0,25 mg
- biotine	1 mg
- tocophérol	300 mg
- vit. B_{12}	0,02 mg
- thiamine	20 mg
- riboflavine	20 mg
- adermine	20 mg
- nicotinamide	25 mg
- pantothénate de calcium	50 mg
- acide folique	2 mg
- inositol méso	850 mg
- choline chlorhydrate	2 mg

Ces vitamines sont homogénéisées sur agar-agar en poudre, à raison de 25 g par kg de régime.

Le régime T diffère de X_0, par l'adjonction de 4 % de lait en poudre et l'absence d'addition de vitamine B_{12}.

111 - SOLUTIONS ET PRODUITS UTILISES

1 - Tyrode phosphaté de ULLRICK et WHITEHORN (111), dont la composition pour 100 ml est la suivante :

solution de NaCl 3,90 g/l	82,00 ml
solution de KCl 0,414 g/100 ml	3,40 ml
solution de $CaCl_2$ 1,664 g/100 ml	1,00 ml
solution de KH_2PO_4 0,88 g/100 ml	0,80 ml
tampon { KH_2PO_4 0,9078 g/100 ml	2,00 ml
tampon { Na_2HPO_4 7,205 g/500 ml	8,00 ml
H_2O	qs 100,00 ml

2 - Solution aqueuse de glucose à 20 % = substrat

3 - Les hormones sont des produits du commerce

On utilise la Thyroxine synthétique "Roche" en ampoules de 1 mg par ml ; le contenu de ces ampoules est amené à la concentration voulue par simple dilution.

L'acide Tétraiodothyroacétique est un produit cristallisé fourni par "Glaxo". La solution se fait de la manière suivante : 2 mg du produit sont dissous dans quelques gouttes de HONa à 2,5 g/l, puis amenés à la concentration désirée par dilution aqueuse .

4 - Le coenzyme A cristallisé (Nutritional Biochemicals Incorporation) est dissous dans le Tyrode , à raison de 1 mg/ml.

Toutes ces solutions sont faites quotidiennement, au moment de l'expérience.

1V - MODE OPERATOIRE

Nous déterminons la respiration selon la technique classique de Warburg. Les fioles contiennent un volume total de 3,2 ml, ainsi constitué :

- dans le compartiment principal :

33 µMoles glucose à 20 p. 100, soit	0,30 ml
Tyrode	qs 3,20 ml
coupe (pesant 8 à 12 mg après dessication)	

- dans le bras latéral :

l'hormone, dont la quantité varie selon les essais	
le coenzyme A , lorsqu'il y a lieu	

- dans la cupule centrale

KOH à 20 p. 100	0,20 ml

L'animal soumis ou non à un jeûne de 16 heures est tué par décapitation.

Nous allons successivement envisager le cas des coupes et des homogénats .

1/ Coupes

Le foie est aussitôt prélevé et mis dans la glace. Etant donnée l'hétérogénéité des divers lobes hépatiques, ces coupes, de 0,3 à 0,4 mm d'épaisseur, sont toujours faites sur le lobe droit du foie, avec l'appareil Stadie-Brigg. Elles baignent dans du Tyrode glacé avant d'être mises dans les fioles de Warburg, dont le contenu est aussi refroidi.

On introduit alors les fioles dans le bain à 37°C, et l'on fait passer un courant d'oxygène pur, pendant 5 minutes ; on laisse 3-4 minutes supplémentaires avant la lecture, pour permettre l'équilibre de l'oxygène à 37°C ; pendant cette période, on transvide le contenu du bras latéral dans le compartiment principal. Puis, on fait la première lecture. Entre cette lecture et la mort de l'animal, 25 minutes environ se sont écoulées.

On mesure le volume d'oxygène absorbé en l'espace de 20 minutes. On enlève les coupes que l'on rince plusieurs fois à l'eau distillée avant de les mettre dans des pèse-filtres préalablement tarés, puis on les laisse à l'étuve

à 105° C pendant 16 à 18 heures. Les respirations sont alors exprimées en µl de O_2 consommés en 20 minutes par rapport au mg de poids sec.

2 / Homogénats

Quelques expériences sont faites sur des homogénats préparés de la manière suivante : le tissu, toujours prélevé sur le lobe droit du foie, est homogénéisé dans le saccharose 8,5 pour 100 dans l'homogénéiseur de POTTER, à raison de 1 g de tissu pour 10 ml de saccharose 8,5 p. 100.

Dans ces expériences, la coupe est remplacée par 0,3 ml d'homogénat, ce qui correspond à 30 mg de tissu frais. Cette quantité est équivalente à celle généralement utilisée par les physiologistes dans les expériences sur coupes. La respiration est alors exprimée par rapport au mg d'azote, le dosage étant fait par KJELDAHL sur une partie aliquote de cet homogénat.

PREPARATION DES MITOCHONDRIES

Toutes les expériences relatées dans ce mémoire concernent soit les coupes, soit les homogénats. Nous nous proposons d'étendre ces recherches au niveau des mitochondries.

Lors d'une étude faite sur la répartition du système enzymatique de la glycolyse au niveau des structures de la cellule hépatique, nous avons eu l'occasion d'utiliser une méthode d'isolement de mitochondries pures que nous avions mise au point avec HAREL et MOULE (37,38). Bien que cette étude fasse l'objet de notre seconde thèse, il nous semble tout indiqué d'exposer brièvement dans ce chapitre consacré aux techniques, le mode d'obtention des mitochondries pures.

Obtention des mitochondries pures

Toutes les opérations ont lieu à 4°C. Les centrifugations sont faites avec une centrifugeuse Internationale PR I, à partir du tissu hépatique de rat, homogénéisé dans un appareil de Potter en plexiglass.

On homogénéise le foie dans 9 volumes de saccharose 8,5 %. Après filtration sur une mince couche de laine de verre, l'homogénat est centrifugé 10 minutes à 600 g pour sédimenter les noyaux, selon la méthode de SCHNEIDER (98). La fraction nucléaire obtenue est lavée dans les mêmes conditions, puis les deux surnageants sont réunis.

L'ensemble des surnageants est alors centrifugé 10 minutes à 8500 g, puis décanté sans précaution. Soit M_1 le culot obtenu.

Ce dernier, mis en suspension dans le saccharose 8,5 %, est à nouveau centrifugé 10 minutes à 8500 g. On obtient alors un culot présentant deux couches concentriques : l'une plus jaune au fond, l'autre assez rose à la surface. Cette seconde couche, que nous avons appelée "couche légère" correspond à la "fluffy layer" des auteurs américains (47) ; elle repasse facilement en suspension si l'on agite doucement le tube qui contient encore 2 ml. de surnageant, tandis que les mitochondries restent fermement collées au fond du tube. On élimine la "couche légère" par décantation, et l'on garde le culot M_2 de mitochondries.

Le culot M_2, lavé une troisième fois dans les mêmes conditions permet d'obtenir des mitochondries pures M_3, exemptes de toute contamination cytoplasmatique, par suite de l'élimination de la "couche légère". L'examen au microscope électronique permet de constater l'homogénéité de cette préparation. Enfin, ces mitochondries sont caractérisées par une teneur constante en lipides totaux et phospholipides, ces derniers représentant 50 % des lipides totaux.

REMARQUES

Avant d'exposer nos résultats, nous tenons à insister sur les points suivants :

1 - les Q_{O_2} de coupes prélevées sur le même lobe de foie, mesurés dans les mêmes conditions, ont des valeurs différant entre elles de 5 % au maximum.

2 - toutes les valeurs de Q_{O_2}, indiquées dans nos tableaux, sont obtenues en faisant les moyennes de 3 mesures pour les témoins sans Thyroxine, de 2 ou 3 mesures pour les essais avec T_4. Cette remarque ne concerne pas les quelques expériences faites sur homogénat, et dans lesquelles les valeurs de Q_{O_2} ne correspondent qu'à une seule mesure.

3 - toutes les fois qu'il y avait lieu, nous avons calculé les moyennes, et fait la comparaison de ces moyennes selon le test en t de STUDENT et FISHER, afin de pouvoir conclure avec certitude si les différences obtenues entre les séries avec ou sans addition de T_4, étaient significatives ou non.

CHAPITRE II

MISE EN EVIDENCE DE L'ACTION IMMEDIATE DE LA THYROXINE SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE IN VITRO

Nous avons essayé de rester parfaitement objective à l'égard de toutes les observations valables, relatées dans notre première partie, et concernant soit la Thyroxine, soit ses dérivés, même lorsque ces observations paraissaient contradictoires, dans l'espoir de parvenir à comprendre le mode d'action de l'hormone thyroïdienne sur les oxydations des tissus.

Nous avons fait nos premiers essais dans des conditions très variées : rats de diverses souches ingérant des régimes différents, mesures sur homogénats et sur coupes, afin de mieux saisir les conditions à réaliser pour observer une action immédiate de T_4 sur la respiration des tissus in vitro, en milieu Tyrode glucosé.

I/ HOMOGENATS

I - CONDITIONS EXPERIMENTALES

Pour chaque expérience, nous prenons 0,3 ml d'homogénat, soit 30 mg de tissu frais (cf. p. 32). Cette quantité de tissu est équivalente à celle utilisée par divers physiologistes dans les expériences sur coupes.

Nous avons pris les quantités de Thyroxine employées au laboratoire pour les essais d'activation de l'hormone in vitro par le CoA, soit 30 µg ou $3,86 \times 10^{-8}$ moles de Thyroxine par fiole, ou encore 1×10^{-5} g/ml.

Mais puisque la transformation de T_4 en son dérivé acétique est

plus rapide dans les homogénats que dans les tissus, selon LARDY et coll. (48), et que cet acide tétraiodothyroacétique est toxique selon THIBAULT et PITT-RIVERS (106), nous avons également utilisé des concentrations plus faibles de Thyroxine, afin que l'action éventuelle de T_4 ou de son dérivé sur les oxydations, ne soit pas masquée par suite d'une inhibition de la respiration due à une concentration trop élevée en dérivé acétique.

Nous avons étudié l'action de l'hormone et sur rats Wistar souche Commentry, nourris soit au régime X_0, soit au Sorolabo, et sur rats Wag(Gif). Ces derniers ingèrent un régime T, différant de X_0 par l'adjonction de 4p. 100 de lait en poudre et l'absence d'addition de vitamine B_{12}. Ces animaux sont soumis à un jeûne de 14 à 16 heures avant leur sacrifice par décapitation.

Dans cette série de mesures, les respirations sont exprimées en $\mu l\ O_2$ consommés par mg d'azote et par 20 minutes.

II - RESULTATS

Le tableau 1 résume l'ensemble des résultats de ces expériences. Nous constatons immédiatement que :

1 - la Thyroxine agit sans temps de latence sur la respiration des homogénats de foie.

2 - la réponse du tissu est fonction de la dose d'hormone : plus cette dernière est faible, plus la réponse est élevée, entre 1×10^{-5} et 1×10^{-13} g/ml.

3 - l'action de l'hormone varie d'ampleur selon le régime ingéré par le Rat. Un examen plus approfondi de ce tableau fait apparaître que :

-les tissus des rats soumis aux deux régimes équilibrés (X_0 et T) peuvent donner une réponse positive pour des doses de T_4 comprises entre 1×10^{-5} et 1×10^{-13} g/ml, quelle que soit la souche.

- chez les rats nourris avec le régime Sorolabo, on n'observe pas d'augmentation du Q_{O_2} du foie pour les concentrations de 1×10^{-5} et 1×10^{-9} g/ml, mais avec la faible concentration de 1×10^{-13} g/ml de T_4, les foies de 2 rats sur 4 répondent.

Si l'influence de la dose d'hormone a déjà été soulignée par HAARMAN et REINWEIN, en revanche cette première série d'expériences mettait en évidence pour la première fois, de façon nette, indiscutable, l'influence du régime ingéré par l'animal sur l'augmentation immédiate des oxydations par adjonction de T_4 à l'homogénat de tissu.

Mais les homogénats respirent peu et les volumes d'oxygène absorbés sont très petits, de sorte que de faibles erreurs dans la mesure des volumes peuvent entraîner des erreurs considérables dans les calculs d'activation par T_4.

La respiration des coupes, par mg de tissu, est nettement supérieure à celle des homogénats, car l'intégrité des multisystèmes enzymatiques est mieux respectée. C'est pourquoi, nous avons étudié l'action de T_4 sur la respiration des coupes : les consommations d'oxygène étant plus élevées, les erreurs relatives commises dans la comparaison des volumes sont plus faibles, ce qui donne plus de certitude dans l'interprétation des résultats.

Un milieu autre que le Tyrode glucosé, nous aurait, certes, donné des niveaux d'oxydation plus élevés, mais notre but était non de mesurer la "respiration potentielle" du tissu, mais d'en étudier la "respiration actuelle", et de voir si la Thyroxine pouvait l'augmenter sans temps de latence

TABLEAU I

ACTION DE T_4 SUR LE Q_{O_2} DES HOMOGENATS DE FOIE IN VITRO

al	Souche	Régime	Age	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4		3.10^{-9} g T_4		3.10^{-13} g T_4	
				Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δ p.100	Q_{O_2}	Δ p.100	Q_{O_2}	Δ p.100
	Co	X_0	8 mois	8,64	9,18	+ 6	17,06	+ 97	-	-
	Co	X_0	8 mois	11,2	11,9	+ 6	16,9	+ 50	18,3	+ 63
	Co	X_0	8 mois	4,07	6,67	+ 63	6,66	+ 63	5,62	+ 38
	Co	X_0	8 mois	4,96	9,99	+ 101	10,36	+ 108	13,12	+ 164
	Co	Sordabo	6-7 mois	9,64	10,57	+ 9	10,17	+ 5	10,98	+ 14
	Co	Sordabo	id.	9,96	10,32	+ 3	13,25	+ 32	19,70	+ 97
	Co	Sordabo	id.	7,76	8,57	+ 10	8,67	+ 11	10,90	+ 40
	Co	Sordabo	id.	7,44	8,39	+ 13	7,99	+ 6	8,28	+ 11
	GIF	T	6-7 mois	10,75	12,35	+ 14	14,08	+ 30	13,30	+ 28
	GIF	T	id.	8,65	10,27	+ 19	12,51	+ 44	15,04	+ 74
	GIF	T	id.	7,30	9,00	+ 23	8,82	+ 20	10,17	+ 40

Les résultats sont exprimés en µl O_2 par mg azote et 20 minutes.

2) COUPES DE TISSU

I - CONDITIONS EXPERIMENTALES

Les expériences ont été faites sur des rats mâles, Wistar souche Commentry, nés au laboratoire, nourris au régime K_0 depuis leur sevrage. Tous les animaux appartiennent au même lot ; les mesures ayant été faites à des temps différents, ils ont des âges différents au moment du sacrifice.

Les animaux sont tués par décapitation, sans avoir été soumis à un jeûne préalable.

Nous utilisons par fiole une dose de T_4 de 3×10^{-5} g.

II - RESULTATS

L'examen du tableau 2 nous montre que la dose de 1×10^{-5} g/ml de Thyroxine augmente immédiatement la respiration des coupes de foie dans 8 cas sur 9, et de 34 p. 100 en moyenne.

Nous verrons dans les chapitres suivants qu'une concentration plus faible en Thyroxine (1×10^{-9} g/ml au lieu de 1×10^{-5} g/ml) donne généralement des augmentations moins élevées de Q_{O_2}, ce qui contraste avec les résultats obtenus sur homogénats.

L'effet de la concentration en T_4 réalisée dans le milieu, diffère donc selon qu'il s'agit de coupes ou d'homogénats. Dans le cas des coupes, la nécessité d'une dose plus élevée de T_4, pourrait s'expliquer et par des conditions de diffusion moins favorables vers les sites d'oxydation, et par une désamination oxydative et décarboxylation permettant la transformation de Thyroxine en Tétrac moins actives (1) que dans le cas des homogénats. Or, la suite de nos expériences est en faveur de la nécessité d'une telle transformation pour permettre à T_4 d'augmenter la respiration des tissus.

III - CONCLUSION

Lorsque l'animal a ingéré un régime complet, équilibré, on

TABLEAU 2

ACTION DE T_4 SUR LA RESPIRATION DES COUPES DE FOIE IN VITRO

Animal	Age	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4	
		Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δ p. 100
28	6 mois	2,70	4,05	+ 50
29	6 mois	1,55	2,88	+ 85
30	7 mois	3,24	4,27	+ 31
31	7 mois	2,34	2,92	+ 24
32	9 mois	2,55	2,81	+ 10
33	9 mois	1,62	2,39	+ 47
34	9 mois	2,45	3,14	+ 28
35	9 mois	3,28	3,18	- 3
Moyenne		$2,46 \pm 0,25$	$3,25 \pm 0,23$	+ 34

Résultats exprimés en μl de O_2 par mg de poids sec par 20 minutes.

La comparaison des moyennes des 2 séries selon le test en t de Student-Fisher nous permet de conclure que les différences entre les 2 séries sont significatives avec un coefficient de sécurité de 95 %.

observe une augmentation du Q_{O_2} des coupes ou des homogénats de foie par la Thyroxine elle-même, sans temps de latence Cette augmentation est de 34 p. 100 en moyenne, dans le cas des coupes. Avec un régime dont les teneurs en vitamines ne sont pas définies (Sorolabo), cette action de T_4 sur les oxydations peut faire défaut.

Ce fait acquis, deux questions viennent naturellement à l'esprit :

1 - Suffit-il qu'un animal ingère un régime bien équilibré pour répondre immédiatement à l'action de T_4, ou doit-il remplir certaines conditions physiologiques : sexe, âge, etc.

2 - Quels sont le ou les constituants du régime nécessaires pour qu'une telle action de l'hormone in vitro ait lieu ?

La suite de nos recherches essaye de répondre à ces deux questions, en vue de pouvoir aborder le mécanisme d'action de la Thyroxine et, dans l'avenir, le problème si discuté de son effet sur le découplage des oxydations phosphorylantes.

TROISIEME PARTIE

INFLUENCE DE QUELQUES FACTEURS PHYSIOLOGIQUES SUR L'ACTION IMMEDIATE DE LA THYROXINE SUR LES OXYDATIONS DU TISSU HEPATIQUE IN VITRO

CHAPITRE I

INFLUENCE DE L'AGE

Tous les animaux utilisés dans cette étude sont des Rats Wistar souche Commentry, nés au laboratoire, et ingérant le régime X_0 depuis le sevrage.

Nous avons examiné si l'âge, le sexe ou l'état hormonal de l'animal exerçaient une influence sur la réponse in vitro des oxydations à la Thyroxine, l'animal recevant toujours le régime complet équilibré X_0.

Plusieurs auteurs ont montré l'influence de l'âge, en ce qui concerne l'action de la Thyroxine sur le métabolisme basal de l'animal.

Dès 1935, LE BRETON et SCHAEFFER (54) ont observé que les lapereaux de poids inférieur à 350 g ne répondaient pas à l'hormone, même pour une dose élevée et par ailleurs toxique (2 mg/kg). Seuls, les animaux de poids supérieur répondent à T_4, et encore faut-il qu'ils atteignent 800 g pour que l'hormone agisse sans manifester de toxicité.

O. THIBAULT (exp. non publiées), a également observé que le très jeune rat ne répond pas aux hormones thyroïdiennes.

Enfin, BELASCO (15) observe que l'hypermétabolisme obtenu chez les jeunes rats après injection de l'hormone pendant 6 jours consécutifs, est moindre que celui produit chez les animaux plus âgés (+ 47 , + 65 et + 75 % respectivement à 2 , 4 et 12 mois). Il en est de même en ce qui concerne la

respiration du foie, prélevé sur les rats, où l'augmentation est de 20 p. 100 à 2 mois, de 30 p. 100 à 6 mois et au-dessus.

Au cours de nos recherches, ayant eu l'occasion d'étudier des animaux d'âges divers, nous avons également observé des actions différentes de T_4 sur les Q_{O_2} selon l'âge.

Nous donnerons les résultats concernant les très jeunes animaux, puis nous étudierons l'évolution de la sensibilité du tissu hépatique à l'hormone, au cours de la vie des Rats.

ACTION DE T_4 SUR LES TISSUS DES ANIMAUX EN FONCTION DE L'AGE

1 - Cas des jeunes rats, âgés de 7 semaines

Etant donnés les faits observés précédemment, il nous fallait écarter l'influence des facteurs alimentaires, aussi avons-nous soumis, dès le sevrage, les animaux au régime X_0 pendant 3 à 4 semaines. C'est la raison pour laquelle nos rats ont 7 semaines (3 semaines d'allaitement).

Nous avons utilisé pour les coupes de foie de ces animaux, des doses de T_4 de 1×10^{-5} et 1×10^{-9} g/ml. On constate que (cf. tableau 3) :

- les tissus des jeunes rats sont beaucoup moins sensibles que ceux des adultes à la Thyroxine : les foies de 3 rats sur 5 ne répondent pas à l'addition de T_4.

- d'autre part, l'addition de CoA au milieu n'active pas la Thyroxine. L'augmentation observée en présence du mélange T_4 + CoA est approximativement égale à la somme des augmentations de chaque composant.

La raison d'être de ces expériences va de soi, étant donnée l'hypothèse exposée plus haut (cf. p. 22). En rapprochant nos résultats de ceux de BELASCO, nous pensons qu'entre 7 et 8 semaines, les tissus acquièrent leur sensibilité à l'hormone.

respiration du foie, prélevé sur les rats, où l'augmentation est de 20 p. 100 à 2 mois, de 30 p. 100 à 6 mois et au-dessus.

Au cours de nos recherches, ayant eu l'occasion d'étudier des animaux d'âges divers, nous avons également observé des actions différentes de T_4 sur les Q_{O_2} selon l'âge.

Nous donnerons les résultats concernant les très jeunes animaux, puis nous étudierons l'évolution de la sensibilité du tissu hépatique à l'hormone, au cours de la vie des Rats.

ACTION DE T_4 SUR LES TISSUS DES ANIMAUX EN FONCTION DE L'AGE

1 - Cas des jeunes rats, âgés de 7 semaines

Etant donnés les faits observés précédemment, il nous fallait écarter l'influence des facteurs alimentaires, aussi avons-nous soumis, dès le sevrage, les animaux au régime X_0 pendant 3 à 4 semaines. C'est la raison pour laquelle nos rats ont 7 semaines (3 semaines d'allaitement).

Nous avons utilisé pour les coupes de foie de ces animaux, des doses de T_4 de 1×10^{-5} et 1×10^{-9} g/ml. On constate que (cf. tableau 3) :

- les tissus des jeunes rats sont beaucoup moins sensibles que ceux des adultes à la Thyroxine : les foies de 3 rats sur 5 ne répondent pas à l'addition de T_4.

- d'autre part, l'addition de CoA au milieu n'active pas la Thyroxine. L'augmentation observée en présence du mélange T_4 + CoA est approximativement égale à la somme des augmentations de chaque composant.

La raison d'être de ces expériences va de soi, étant donnée l'hypothèse exposée plus haut (cf. p. 22). En rapprochant nos résultats de ceux de BELASCO, nous pensons qu'entre 7 et 8 semaines, les tissus acquièrent leur sensibilité à l'hormone.

TABLEAU 3

EFFET DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE IN VITRO, CHEZ DES RATS AGES DE 7 SEMAINES

Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4		3.10^{-9} g T_4		50 µg CoA		3.10^{-5} g T_4 + 50µg CoA	
	$\mathcal{Q}O_2$	Δp.100	$\mathcal{Q}O_2$	Δp.100	$\mathcal{Q}O_2$	Δp.100	$\mathcal{Q}O_2$	Δ p. 100
2,18	2,59	+ 19	2,68	+ 23	2,67	+ 22	3,02	+ 38
2,88	3,03	+ 5	2,96	+ 3	2,25	+ 13	3,22	+ 12
2,60	2,74	+ 5	2,84	+ 9	2,87	+ 10	3,05	+ 17
2,63	2,56	- 3	2,46	- 6	3,09	+ 17	3,00	+ 14
2,62	3,01	+ 15	-	-	3,20	+ 22	3,58	+ 37
$2,58 \pm 0,11$	$2,78 \pm 0,10$	+ 8	$2,73 \pm 0,11$	+ 10	$3,06 \pm 0,13$	+ 17	$3,13 \pm 0,11$	+ 24

Résultats exprimés en µl O_2 / mg poids sec / 20 minutes.

2 - Cas des rats âgés de 2 mois à 12 mois

Nos essais nous ayant amené à utiliser des animaux d'âges divers, nous avons pu observer une influence de l'âge dans la sensibilité du tissu à l'hormone. Cette influence se dégage assez nettement, malgré la dispersion des résultats.

Le tableau 4 résume l'ensemble de ces observations. Il ressort de l'examen de ce tableau que :

1 - la Thyroxine, peu ou pas active sur les oxydations du foie de rats âgés de 7 semaines, agit nettement sur celles du foie de rat de 3 mois, même à la dose de 1×10^{-9} g/ml.

2 - les tissus d'animaux de 5, 6, 7 mois sont nettement plus sensibles à l'action in vitro de l'hormone que les tissus de rats plus jeunes.

3 - les rats âgés de 12 mois semblent redevenir insensibles à T_4. Ce résultat mérite, pensons-nous, d'être confirmé par des expériences plus nombreuses, puisqu'il s'oppose à la conclusion de DELASCO selon laquelle le MB du Rat serait aussi sensible à 12 mois qu'à 6 mois : des injections de 0,2 mg/100 g de T_4 pendant 6 jours consécutifs augmentent la respiration du tissu hépatique de 34 p. 100. dans les deux cas.

CONCLUSION

Les raisons de l'insensibilité du niveau d'oxydation à la Thyroxine doivent, pensons-nous, être différentes selon qu'il s'agit du Rat jeune ou du Rat âgé.

Le Q_{O_2} du foie de rat âgé de 7 semaines est légèrement plus élevé que le Q_{O_2} du foie de rats de 3, 4 ou 5 mois, mais la différence est faible. En revanche, l'effet de T_4 sur la respiration des coupes augmente régulièrement entre 2 et 7 mois pour décroître ensuite. On pourrait expliquer ce fait par diverses hypothèses : modification de la perméabilité cellulaire au cours de l'âge, ou variation de la vitesse de réaction d'activation de l'hormone.

TABLEAU 4

EVOLUTION DE LA SENSIBILITE DU TISSU HEPATIQUE A T_4 IN VITRO, EN FONCTION DE L'AGE

Age	Animal	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4		3.10^{-9} g T_4	
		ΩO_2	ΩO_2	Δp. 100	ΩO_2	Δp.100
mois	89	2,21	2,83	+ 28	2,60	+ 17
	90	2,10	2,60	+ 24	2,84	+ 35
	108	2,78	3,17	+ 14	2,83	+ 2
	Moyenne	2,36 ± 0,21	2,86 ± 0,16		2,75 ± 0,08	
mois	91	2,47	2,90	+ 17	2,71	+ 10
	185	2,22	2,78	+ 25	2,52	+ 13
	186	1,95	2,42	+ 24	2,30	+ 18
	186 bis	2,65	2,95	+ 11	2,97	+ 12
	100	2,31	2,86	+ 24	2,66	+ 15
	121	2,70	3,23	+ 20	2,86	+ 6
	122	2,74	3,29	+ 20	-	-
	112	2,61	3,12	+ 19	3,43	+ 31
	Moyenne	2,45 ± 0,10	2,94 ± 0,10		2,78 ± 0,13	
5 mois	187	2,51	3,32	+ 32	3,72	+ 48
	188	2,32	3,51	+ 51	-	-
	189	1,94	2,60	+ 34	-	-
	190	2,49	2,90	+ 16	-	-
	106	2,15	2,59	+ 20	2,60	+ 21
	109	2,73	3,28	+ 20	3,01	+ 10
	118	2,63	3,26	+ 24	3,09	+ 17
	125	2,48	2,81	+ 13	2,89	+ 16
	191	1,76	2,30	+ 31	-	-
	192	2,12	2,74	+ 28	-	-
	193	2,83	3,31	+ 17	3,18	+ 12
	194	2,54	3,47	+ 37	3,29	+ 29
	195	2,51	2,75	+ 10	3,20	+ 27
	196	2,43	2,84	+ 17	-	-
	197	2,59	3,59	+ 38	3,38	+ 30
	Moyenne	2,40 ± 0,07	3,02 ± 0,10		3,15 ± 0,10	

TABLEAU 4 (Suite)

Age	Animal	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4		3.10^{-9} g T_4	
		Ω_{O_2}	Ω_{O_2}	Δp.100	Ω_{O_2}	Δp.100
6 mois	28	2,70	4,05	+ 50	-	-
	29	1,55	2,88	+ 85	-	-
7 mois	30	3,24	4,27	+ 31	-	-
	31	2,34	2,92	+ 24	-	-
	75	2,24	2,98	+ 33	-	-
	76	1,98	2,52	+ 27	2,47	+ 25
	Moyenne	$2,45 \pm 0,27$	$3,17 \pm 0,38$			
9 mois	32	2,55	2,81	+ 10	-	-
	33	1,62	2,39	+ 47	-	-
	34	2,45	3,14	+ 28	-	-
	35	3,28	3,18	- 3	-	-
	163	2,66	3,25	+ 22	2,71	+ 2
	164	2,34	2,80	+ 20	2,58	+ 10
	165	2,34	2,58	+ 10	2,70	+ 15
	Moyenne	$2,46 \pm 0,06$	$2,88 \pm 0,12$			
12 mois	161	2,86	2,68	- 6	2,72	- 5
	162	2,69	2,92	+ 9	2,69	0
	161 bis	2,42	2,50	+ 3	2,66	+ 10
	162 bis	2,12	2,53	+ 19	2,48	+ 17
	Moyenne	$2,52 \pm 0,16$	$2,66 \pm 0,09$		$2,64 \pm 0,05$	

Les Ω_{O_2} sont exprimés en μl O_2 / mg de tissu sec / 20 minutes.

CHAPITRE II

INFLUENCE DU SEXE

L' antagonisme entre les sécrétions ovarienne et thyroïdienne est un fait bien établi, du point de vue clinique. Cette action antithyroïdienne de la folliculine s''exerce par 3 mécanismes (113), puisque :

1 - les oestrogènes diminuent le taux de sécrétion de l'hypophyse en thyréostimiline, ce qui se répercute par une chute de la concentration de cette hormone dans l'urine.

2 - une imprégnation préalable de l''animal par les oestrogènes inhibe la réponse de la thyroïde à une injection de TSH.

3 - la folliculine diminue l'action des hormones thyroïdiennes sur le métabolisme basal.

En accord avec ces faits, BELASCO (14) observe que des injections répétées de T_4 par voie sous-cutanée (0, 2 mg / 100 g/jour pendant 6 jours) sont moins efficaces chez la femelle que chez le mâle. Les augmentations concernant le MB ou la respiration du tissu hépatique sont toujours plus faibles chez la femelle, quel que soit l'âge des animaux étudiés.

Mais ces expériences concernent l'antagonisme oestrogène Thyroxine in vivo, nous avons voulu examiner si cet antagonisme subsistait in vitro, par action directe de T_4 sur des coupes de foie prélevé sur des femelles.

Les animaux dont nous avons disposé pour cette expérience sont des femelles de 4 - 5 mois, c'est-à-dire d'un âge où le tissu hépatique est sensible à l'hormone.

Nous avons étudié l'action de 2 doses d'hormone : 1×10^{-5} et 1×10^{-9} g/ml T_4.

RESULTATS

D'après ce que nous venons de dire, il faut s'attendre à ce que les foies des différentes rattes réagissent diversement, selon le niveau de sécrétion des hormones femelles.

L'examen du tableau 5 (cf. p.53) nous montre effectivement que la respiration des coupes de foie est insensible à la dose élevée de Thyroxine chez 4 ♀ ; en revanche Q_{O_2} est augmenté de 19 p. 100 chez 2 ♀ et de 49 p. 100 chez 2 autres. A dose plus petite, l'hormone n'agit que chez 3 femelles, et beaucoup plus faiblement.

En conclusion, le tissu hépatique de la femelle est beaucoup moins régulièrement sensible à l'action de T_4 que le tissu hépatique du mâle. L'effet inhibiteur des oestrogènes sur l'action de la Thyroxine sur les oxydations, observé chez la ratte in vivo, se manifeste in vitro au niveau du tissu hépatique.

Des expériences en cours sur des Rattes prises aux divers stades de l'oestrus ainsi que sur des Rats mâles et femelles castrés, permettont de renforcer cette conclusion.

TABLEAU 5

ACTION DE T_4 SUR LA RESPIRATION DES COUPES DE FOIE, CHEZ LA FEMELLE

Rat	Témoin sans T_4	3.10^{-9} g T_4		3.10^{-5} g T_4	
		Q_{O_2}	Δ p.100	Q_{O_2}	Δ p.100
65	3,14	3,27	+ 4	3,42	+ 9
66	1,99	2,40	+ 21	2,36	+ 19
67	2,11	2,59	+ 23	3,07	+ 45
68	2,23	2,36	+ 6	2,65	+ 19
69	2,26	2,61	+ 15	3,28	+ 45
69 bis	2,18	2,33	+ 7	2,37	+ 8
69 ter	2,21	2,31	+ 5	2,40	+ 8
65 bis	2,63	2,53	- 4	2,60	- 1
Moyenne	$2,34 \pm 0,13$	$2,55 \pm 0,11$		$2,77 \pm 0,15$	

Les Q_{O_2} sont exprimés en µl O_2 par mg tissu sec par 20 minutes.

CHAPITRE III

INFLUENCE DE QUELQUES SECRETIONS HORMONALES

Après avoir constaté l'influence des hormones sexuelles sur l'action de T_4 *in vitro*, il nous a semblé intéressant d'étudier l'influence d'autres sécrétions hormonales.

En effet, bien que l'activité thyroïdienne soit sous la dépendance directe de la thyréostimuline sécrétée par l'hypophyse antérieure, les cortico-surrénales, comme les glandes génitales, retentissent sur le fonctionnement thyroïdien. Inversement, la thyroïde influe sur le fonctionnement des autres glandes (113).

Plusieurs travaux ont été consacrés à ces interactions glandulaires, et à leur répercussion sur la réponse du MB de l'animal aux hormones thyroïdiennes.

I - INFLUENCE DE L'ETHYROIDE

Depuis longtemps déjà, les physiologistes ont constaté que les animaux éthyroïdés, dont le métabolisme basal est du reste inférieur de 20 à 30p. 100 au MB des animaux normaux, répondaient mieux à l'injection de Thyroxine. Dès 1939, MEYER et WERTZ (72) observaient que les rats éthyroïdés étaient 25 à 30 fois plus sensibles que les normaux. BARKER et coll. (11) font des observations analogues.

De même, l'injection de 20 mg/kg T_4 par voie sous-cutanée, 48 heures avant le sacrifice de l'animal, augmente la respiration du foie

de 21 p. 100 chez le rat normal, de 48 p. 100 chez l'éthyroïdé, selon RAPPORT et coll. (32).

Nous ne retiendrons pas ici la publication de ANDICK et coll. (4) en 1949, concernant les effets de T_4 sur le MB du rat. Leurs résultats singuliers sont en contradiction avec toutes les données classiques ou récentes.

Expériences personnelles

Nous avons fait ces expériences sur des rats Wistar, souche Commentry, ingérant le régime X_0 depuis leur sevrage. Le lot a été divisé en deux parties : une moitié des Rats a servi de témoin, tandis que les autres étaient opérés. Ces animaux avaient près de 6 mois au moment de la thyroïdectomie, les mesures ont été faites 1 mois ou plus après l'opération.

Les résultats consignés dans le tableau 6 mettent en valeur les faits suivants :

1 - le tissu hépatique du rat éthyroïdé respire moins que celui du foie normal. Cette diminution est de 17 p. 100.

2 - l'augmentation moyenne de la respiration, due à la présence de T_4, est de 34 p. 100 chez le rat normal, de 43 p. 100 chez l'éthyroïdé. Les tissus du rat éthyroïdé sont plus régulièrement sensibles à l'action immédiate de T_4 in vitro. L'augmentation est très nette chez tous ces animaux, alors qu'elle est très faible pour 2 des foies des rats non opérés (rats 32 et 35).

Nous tenons à souligner la dispersion des valeurs de la respiration et des augmentations dues à l'addition de T_4 sur ce lot d'animaux, les résultats étant généralement plus groupés. Nous expliquons cet état de choses par le fait que les animaux de cette expérience ont été soumis à une atmosphère bruyante (due aux travaux exécutés dans le laboratoire), contrastant avec le calme auquel les rats sont habitués dans l'élevage. Cette agression, que constitue le bruit, a vraisemblablement modifié le fonctionnement surré-

TABLEAU 6

ACTION DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE DE RATS NORMAUX OU ETHYROIDES, INGERANT LE REGIME X_0

Rats Témoins, non opérés					Rats Thyroïdectomisés				
Age	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4			Rat	Age	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4	
	Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δp. 100				Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δp. 100
7mois	2,70	4,05	+ 50		2	7 mois	2,80	3,95	+ 41
7 mois	1,55	2,88	+ 85		5	7 mois	2,33	2,71	+ 16
7 mois	3,24	4,27	+ 31		6	7 mois	2,33	3,15	+ 35
7 mois	2,34	2,92	+ 24		7	7 mois	1,79	3,64	+ 103
9 mois	2,55	2,81	+ 10		25	9 mois	1,14	1,81	+ 58
9 mois	1,64	2,39	+ 47		27	9 mois	1,86	2,39	+ 28
9 mois	2,45	3,14	+ 28		9	9 mois	2,10	2,65	+ 26
9 mois	3,28	3,54	+ 8						
	2,46 $\pm$ 0,25	3,25 $\pm$ 0,23	+ 34				2,03 $\pm$ 0,24	2,90 $\pm$ 0,28	+ 43

Résultats exprimés en μl de O_2 par mg de tissu sec par 20 minutes.

La comparaison des moyennes des séries avec et sans thyroxine, selon le test en t de Student-Fisher, nous permet de conclure que les différences entre les 2 séries sont significatives avec un coefficient de sécurité de 95 %. Ceci est valable pour les rats non opérés et pour les rats thyroïdectomisés.

nalien, ce qui expliquerait la variabilité des résultats. Toutefois, la conclusion est nette, et les augmentations de l'effet de T_4 sont significatives.

Nous verrrons dans le chapitre suivant, que la thyroïdectomie donne des résultats encore beaucoup plus nets lorsque les animaux ingèrent un régime hypoprotéique (L_{24} à 8p. 100 de protéines au lieu de 22p. 100). Chez ces rats, le tissu hépatique, insensible à l'addition de Thyroxine lorsque l'animal n'est pas opéré, voit ses oxydations augmenter en présence de l'hormone si le rat a été éthyroïdé.

II - INFLUENCE DE L'HYPOPHYSECTOMIE

L'effet de l'hypophysectomie sur la sensibilité des oxydations à T_4 est très net, mais d'interprétation complexe.

Comparant l'action de la Triiodothyronine sur le MB de rats normaux, éthyroïdés ou hypophysectomisés, DONHOFFER et coll. (23) ont pu constater que la sensibilité des animaux à T_3 décroissait quand on passait des hypophysectomisés aux éthyroïdés, puis aux normaux. Ces auteurs attribuent ce fait à la réduction de l'activité surrénalienne chez les hypophysectomisés par suite de la suppression de l'ACTH. En effet, l'injection soit de cortisone, soit d'ACTH supprime la réponse du MB à T_3.

VARNAI et FARKAS (112) obtiennent les mêmes résultats avec T_4 : augmentation rapide du MB du rat hypophysectomisé après injection de 10 µg T_4, mais inhibée par l'injection préalable de 1 mg de cortisone la veille, puis de 1 mg, 3 heures avant l'injection de T_4.

Ces résultats sont à rapprocher également de ceux de BASTENIE et KOWALEWSKI (12), pour qui les rats hypophysectomisés sont beaucoup plus sensibles à l'action calorigène de T_4. BASTENIE, lui aussi, constate que la cortisone inhibe l'effet de T_4 sur le Q_{O_2} (13).

Ces faits, très nets, semblent montrer un antagonisme entre

hormones thyroïdiennes et corticoïdes.

Ces résultats observés chez les rats hypophysectomisés sont intéressants, mais, l'hypophyse réglant l'activité des autres glandes à sécrétion interne, son ablation entraîne des phénomènes complexes. C'est pourquoi, nous avons pensé qu'il serait plus significatif d'étudier l'influence de la seule surrénalectomie sur l'action qu'exerce in vitro T_4 sur les oxydations du tissu hépatique.

III - EFFET DE LA SURRENALECTOMIE

L'ablation des surrénales a été pratiquée sur des animaux âgés de 7 mois, soumis au régime X_0 depuis leur sevrage.

Aussitôt après l'opération, les Rats dont la régulation thermique est troublée, sont mis dans des cages thermostatiques à 28°C. Ces animaux continuent à ingérer le régime standard X_0, et boivent de l'eau salée à 9p. 1000 pour éviter les accidents dûs à l'absence de minéralocorticoïdes.

Les surrénales accessoires se développant dès le 10ème jour, nous avons fait nos mesures 6, 7 et 8 jours après l'opération, c'est-à-dire une fois le choc opératoire passé, et avant la formation des surrénales accessoires.

Comme les animaux dont nous disposions habituellement vivaient à 24°C, nous avons mis quelques animaux témoins à 28°C pendant le même nombre de jours, soit 6 ou 7 jours, afin d'éliminer les modifications de la sensibilité du tissu hépatique à la Thyroxine, étrangères à la surrénalectomie elle-même, et dues à la simple modification de la température extérieure.

Nous avons fait agir 2 doses de T_4 : 1×10^{-5} g/ml T_4 et 1×10^{-9} g/ml T_4.

Les tableaux 7 et 8 (p. 59 et 60) résument les résultats concernant les animaux témoins et les animaux surrénalectomisés, maintenus

dans des cages thermostatiques à 28°C, pendant une semaine environ.

Nous constatons que :

1 - l'élévation de la température ambiante inhibe partiellement l'action de l'hormone sur le tissu hépatique, et la supprime même dans certains cas : 2 rats sur 5 seulement répondent à T_4.

2 - en revanche, chez tous les animaux soumis à cette même température de 28°C après surrénalectomie, on observe une augmentation importante des oxydations sous l'influence de T_4. L'action, très nette et générale pour les fortes doses de T_4 (1×10^{-5} g/ml), subsiste pour les faibles doses (1×10^{-9} g/ml), exception faite pour les rats 81 et 83.

3 - il convient de souligner que l'opération par elle-même fait baisser la respiration du tissu hépatique de 10 p. 100 environ.

Remarques :

1 - il nous semble intéressant de rappeler que C. THIBAULT (104) constate, 6 jours après surrénalectomie, une chute du ME de l'animal du même ordre de grandeur (10 à 25 p. 100).

2 - puisque l'effet activateur de la Thyroxine sur les oxydations diminue lorsque l'animal est maintenu à une température de 28°C au lieu de 24°C, on peut considérer que l'augmentation de l'effet de T_4 sur les oxydations tissulaires de l'animal surrénalectomisé aurait été encore plus importante si le rat opéré avait pu supporter la température de 24°C.

Il apparaît donc que les hormones surrénaliennes s'opposent bien à l'action de la Thyroxine in vitro, comme les expériences de DONHOFFER et coll. le montraient pour les effets in vivo. La surrénalectomie favoriserait l'action de la Thyroxine, par élimination de la cortisone, hormone antagoniste de T_4.

TABLEAU 7

INFLUENCE DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE DE RATS NORMAUX, MAINTENUS 8 JOURS A 28°C

Rat	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4		3.10^{-9} g T_4	
		Q_{O_2}	Δ p. 100	Q_{O_2}	Δ p. 100
75	2,96	3,55	+ 20	2,81	- 5
76	2,35	2,82	+ 20	2,87	+ 22
77	2,75	2,93	+ 7	2,70	- 2
78	2,41	2,72	+ 13	2,83	+ 18
79	2,42	2,30	- 5	2,66	+ 10
Moyenne	$2,58 \pm 0,12$	$2,86 \pm 0,20$		$2,77 \pm 0,04$	

Les Q_{O_2} sont exprimés en µl O_2 par mg tissu sec en 20 minutes.

TABLEAU 8

INFLUENCE DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE DE RATS SURRENALECTOMISES, MAINTENUS 8 JOURS A 28°C

Rat	Témoin sans T_4	3.10^{-9} g T_4		3.10^{-5} g T_4	
	$\overset{\frown}{Q}O_2$	$\overset{\frown}{Q}O_2$	Δ p. 100	$\overset{\frown}{Q}O_2$	Δ p. 100
80	2,29	2,80	+ 22	2,95	+ 29
81	2,70	2,50	- 7	3,02	+ 12
82	2,13	2,70	+ 27	3,18	+ 49
83	2,22	2,03	- 8	2,89	+ 30
84	2,28	2,95	+ 29	3,22	+ 41
85	2,16	2,68	+ 24	2,60	+ 20
86	2,25	2,55	+ 13	2,60	+ 16
87	2,42	2,91	+ 20	2,91	+ 20
88	2,57	3,12	+ 21	3,40	+ 32
Moyenne	$2,33 \pm 0,06$	$2,69 \pm 0,10$	+ 16	$2,97 \pm 0,09$	+ 28

Les $\overset{\frown}{Q}O_2$ sont exprimés en μl O_2 par mg de tissu sec en 20 minutes.

La comparaison des moyennes des séries avec et sans thyroxine, selon le test en t de Student-Fisher, nous permet de conclure que les différences entre 2 séries sont significatives avec un coefficient de sécurité de 95 %, pour la faible dose de T_4, de 99 % pour la forte dose de T_4.

CHAPITRE IV

CONCLUSIONS DE LA TROISIEME PARTIE

Un certain nombre de faits se dégagent des expériences relatées dans cette partie. S'il est nécessaire que l'animal ingère un régime bien équilibré pour que son tissu hépatique réponde immédiatement à l'action de T_4 in vitro, on voit que cette condition ne suffit pas.

Les caractéristiques physiologiques de l'animal lui-même interfèrent sur cette réponse des oxydations du tissu hépatique à l'hormone :

1 - l'âge parait être un facteur important, puisque pour les mêmes conditions expérimentales, les tissus du jeune rat de 7 semaines ne répondent que peu ou pas à l'action de T_4 ; en outre, dès que l'animal atteint l'âge de 1 an; ses tissus perdent leur sensibilité à l'hormone.

2 - l'élévation de la température ambiante à laquelle l'animal est soumis avant le sacrifice, diminue la sensibilité in vitro des systèmes d'oxydation à T_4.

3 - l'état hormonal de l'animal est un facteur dont l'influence est primordiale :

a - par suite de l'antagonisme oestrogènes-Thyroxine, les mâles sont plus sensibles que les femelles.

b - la surrénalectomie favorise l'action de T_4, ce que nous attribuons à la suppression des corticoïdes, notamment de la cortisone, hormone antagoniste de la Thyroxine.

4 - la thyroïdectomie augmente toujours l'action de T_4 toutefois cet effet est fonction du régime ingéré par l'animal, comme nous le verrons dans le chapitre suivant. L'opération modifie peu la réponse des tissus de

l'animal nourri au régime standard X_0. Par contre, si l'animal ingère un régime analogue, mais déficient en protéines (régime L_{24} à 8p. 100 de protéines au lieu de 22p. 100), on constate que les oxydations in vitro ne sont augmentées par la Thyroxine qu'après thyroïdectomie.

Cette constatation nous a amené à étudier systématiquement l'influence du régime sur la réponse de l'animal à la Thyroxine. Cette étude fait l'objet de la partie suivante.

QUATRIEME PARTIE

INFLUENCE DES CONDITIONS NUTRITIONNELLES SUR L'ACTION IMMEDIATE DE LA THYROXINE SUR LES OXYDATIONS IN VITRO

CHAPITRE 1

Dès le début de nos recherches, l'importance du facteur nutrition s'était révélée capitale, puisque les tissus des animaux de même souche répondaient ou non à la Thyroxine selon le régime reçu par le Rat les mois précédant l'expérience : action immédiate de l'hormone chez les animaux soumis au régime X_0, action très faible ou nulle chez ceux soumis au régime commercial.

Un examen rapide de la composition globale de ces deux régimes (cf. p. 28) fait immédiatement apparaître que :

1 - les teneurs en vitamines du régime Sorolabo sont inconnues, sauf pour 3 d'entre elles ajoutées en quantité définie: vitamines A, D, B_2

2 - la teneur en lipides, dans le régime Sorolabo, est moitié de celle du régime X_0.

Il était naturel d'attribuer à ces deux variables, l'insensibilité des tissus de l'animal ingérant le régime commercial.

Nous étions amené d'après l'ensemble des faits rappelés dans les chapitres précédents, à accorder à l'acide pantothénique et à la niacinamide une importance capitale, susceptible d'expliquer la divergence des résultats obtenus.

En effet, les expériences de LE BRETON et LE VAN HUNG (55) ont montré que la Thyroxine, inactive sur la respiration des tissus provenant d'animaux nourris au Sorolabo, devient active après addition de CoA.

D'autre part, Les travaux de OLSON et KAPLAN (77), WILLIAMS et HATA (120), de MASCITELLI - CORIANDOLI (69), ont nettement établi que

la teneur du foie en CoA était fonction de la quantité de pantothénate et de niacinamide ingérés. Or, des dosages effectués par LE VAN HUNG (résultats inédits) sur les foies de Rat, montrent que ceux des animaux nourris au Sorolabo ont une teneur en CoA bien inférieure à celle des animaux nourris au régime X_0.

Dans les expériences sur homogénats (tableau 1), où nous utilisons des rats nourris au régime X_0, et dont les tissus sont riches en CoA, la Thyroxine augmentait immédiatement la respiration des tissus, sans aucune adjonction extérieure. Ces faits mettaient donc nettement en évidence l'importance de la teneur du régime en pantothénate et niacinamide respectivement constituant et promoteur de la synthèse du CoA, pour permettre l'action immédiate de la Thyroxine sur les oxydations in vitro.

A la suite de cette constatation initiale, nous avons examiné l'influence d'un certain nombre d'autres nutriments sur la réponse du tissu à la Thyroxine, dans l'espoir de déterminer les facteurs qui commandent l'action de l'hormone in vitro.

Nous avons en particulier, examiné le rôle :

1 - de quelques vitamines : niacinamide et acide pantothénique, en les supprimant du régime témoin X_0, qui reste complet et équilibré par ailleurs(régime HV),

2 - des lipides, en donnant à l'animal des régimes hypolipidiques (HL) ou lipidoprive(LP).

3 - des protéines, en soumettant les animaux à des régimes hypoprotéiques (L_{24} et L_{25}).

COMPOSITION DES REGIMES ETUDIES

Avant d'exposer les résultats obtenus à la suite de cette étude, nous donnerons brièvement dans le tableau 9, la composition des régimes aux-

quels nous avons soumis nos animaux.

Les modifications portent sur la caséine, saindoux, et huile de noix. Quant aux vitamines, seul le régime HV comporte la suppression de deux d'entre elles du mélange indiqué page 29.

TABLEAU 9

COMPOSITION DES DIFFERENTS REGIMES AUXQUELS ONT ETE SOUMIS LES ANIMAUX

Saccharose	Caséine	Saindoux	Mélange Salin	Levure	Huile de Noix	Mélange vitaminique LB	Observations
p. 100	p. 100	p. 100	p. 100	p.100	p.100	p. 100	
58	22	10	5	2,5	0,8	2,5	
58	22	10	5	2,5	0,8	2,5	0 niacinamide 0 pantothénate
63	22	5	5	2,5	0,8	2,5	
68	22	0	5	2,5	0	2,5	50 mg linoléate après sevrage
72	8	10	5	2,5	0,8	2,5	-
75	5	10	5	2,5	0,8	2,5	-

CHAPITRE II

ROLE DE LA NIACINAMIDE ET DE L'ACIDE PANTOTHENIQUE

Pour étudier le rôle de ces deux vitamines, nous avons soumis les animaux au régime HV ne différant du régime témoin X_0 que par la suppression, dans le mélange vitaminique, de la niacinamide et du pantothénate Ainsi, avions-nous un régime très proche de X_0, mais provoquant dans le foie des animaux l'ingérant une baisse notable en Co A. Tous les autres constituants étant identiques, les modifications observées dans le comportement des tissus de ces rats vis-à-vis de T_4 ne pouvaient être attribuées qu'à cette déficience vitaminique.

Les animaux utilisés dans cette étude ont été mis au régime dès le sevrage, et durant 2 mois au minimum. En effet, nous avons dit plus haut que les jeunes rats de 7 semaines sont insensibles à T_4, même lorsqu'ils ont un régime bien équilibré, et d'autre part, OLSON (77) a montré que chez le rat, il faut 7 à 9 semaines pour atteindre la teneur minimale du foie en CoA, consécutive à une déficience vitaminique.

Nous avons utilisé les deux doses de Thyroxine : 1×10^{-5} et 1×10^{-9} g/ml. Nous avons en outre, fait des mesures en présence de CoA, pour essayer de compenser la déficience du tissu en coenzyme.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

Nous donnons dans les tableaux 10 et 11 les résultats obtenus sur des coupes de foie d'animaux d'un même lot ayant le même âge, nourris soit au régime X_0, soit au régime HV.

Le niveau d'oxydation du tissu hépatique des animaux témoins n'est pas très augmenté par la Thyroxine (augmentation moyenne de 20 %).

Nous attribuons cette relativement faible action de T_4 à la saison à laquelle ont lieu ces expériences (printemps, été) ; rappelons que ce fait avait déjà été observé par HAARMANN, in vitro (36). Cependant, la différence de réponse est nette entre les foies des animaux témoins et ceux des animaux HV.

L'examen des résultats obtenus avec les Rats soumis au régime déficient en pantothénate et niacinamide, montre que (tableau 11) :

1 - quelle que soit la dose de T_4, la réponse du tissu à l'hormone est, soit nulle, soit inférieure à celle des animaux normaux.

En outre, l'augmentation des oxydations, lorsqu'elle a lieu, est généralement plus élevée avec 1×10^{-9} g/ml qu'avec 1×10^{-5} g/ml de Thyroxine. Ceci pourrait s'expliquer par l'effet toxique de l'hormone, lorsqu'elle est ajoutée en quantité supérieure à celle susceptible d'être utilisée.

2 - l'addition de CoA au milieu de respiration, augmente généralement les oxydations du tissu hépatique (augmentation de 15 % en moyenne). Nous attribuons ce fait à l'action du Coenzyme A sur la Thyroxine normalement présente dans le tissu, puisque nos animaux ne sont pas éthyroïdés.

En revanche, l'addition simultanée de T_4 et de CoA ne permet d'obtenir un niveau d'oxydation supérieure à celui résultant de l'addition du seul CoA que dans 5 cas sur 15 (rats I38, 151, 154, 157 et 153) ; et cette augmentation n'est supérieure à la somme des augmentations dues à l'addition soit de T_4, soit de CoA que chez 3 animaux : rats 138, 151 et 157.

Nous ne sommes donc pas parvenu à réaliser in vitro les conditions d'activation de l'hormone, par simple adjonction de CoA au milieu.

Cependant, nos résultats nous amènent à accorder au coenzyme A un rôle important dans l'activation de la Thyroxine, puisque la seule déficience du régime en niacinamide et en pantothénate entraîne, avec la chute de la teneur du foie en CoA, une diminution de l'action de T_4 sur les oxydations du tissu hépatique.

TABLEAU 10

ACTION DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE DE RATS NOURRIS AU REGIME X_0

t	Age	Témoin sans T_4	3.10^{-9} g T_4		3.10^{-5} g T_4	
		Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δp. 100	Q_{O_2}	Δp. 100
	4 mois	2,78	2,83	+ 2	3,17	+ 14
	4 mois	2,18	2,66	+ 22	2,86	+ 31
	4 mois	2,70	2,86	+ 6	3,23	+ 20
	4 mois	2,74	3,39	+ 24	3,29	+ 20
	5 mois	2,61	3,43	+ 31	3,12	+ 19
	5 mois	2,15	2,60	+ 15	2,59	+ 20
	5 mois	2,73	3,01	+ 10	3,28	+ 20
	5 mois	2,63	3,09	+ 17	3,26	+ 24
	6 mois	2,48	2,89	+ 16	2,81	+ 13
nne		$2,55 \pm 0,08$	$2,97 \pm 0,10$	+ 16	$3,07 \pm 0,08$	+ 20

Les Q_{O_2} sont exprimés en μl O_2 /mg tissu sec / 20 minutes.

La comparaison des moyennesdes séries avec et sans thyroxine, lon le test en t de Student-Fisher, nous permet de conclure que les différences tre 2 séries sont significatives avec un coefficient de sécurité de 95 % pour la ble dose de T_4, de 99 % pour la forte dose d'hormone.

TABLEAU 11

ACTION DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE DE RATS SOUMIS AU REGIME HV

Age	Témoin sans T_4	3.10^{-9} g T_4		3.10^{-5} g T_4		50 µg CoA		3.10^{-5} g T_4 + 50 µg Co.	
	Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δp. 100	Q_{O_2}	Δp.100	Q_{O_2}	Δp.100	Q_{O_2}	Δp. 100
3 mois	2,66	2,98	+ 12	3,11	+ 17	3,12	+ 17	3,70	+ 39
3 mois	2,09	2,69	+ 31	2,43	+ 18	2,36	+ 15	2,43	+ 18
3 mois	2,42	2,89	+ 19	2,41	0	2,76	+ 14	3,18	+ 31
4 mois	2,67	2,67	0	2,80	+ 5	3,70	+ 38	3,47	+ 30
4 mois	2,87	3,28	+ 15	3,18	+ 11	3,36	+ 17	2,92	+ 2
4 mois	2,62	2,95	+ 12	2,83	+ 8	3,39	+ 29	3,44	+ 31
4 mois	3,05	3,13	+ 3	3,12	+ 2	3,45	+ 13	3,09	+ 1
5 mois	2,71	2,67	- 1	3,07	+ 13	2,79	+ 3	3,05	+ 12
5 mois	2,73	3,05	+ 12	3,02	+ 11	3,20	+ 17	2,91	+ 7
5 mois	2,57	2,87	+ 12	2,67	+ 4	2,82	+ 10	2,65	+ 3
5 mois	2,44	2,60	+ 6	2,50	+ 2	2,78	+ 14	3,00	+ 23
6 mois	2,34	-	-	2,63	+ 12	2,61	+ 11	2,57	+ 10
6 mois	2,61	-	-	2,70	+ 3	2,62	0	2,81	+ 8
6 mois	2,38	-	-	2,38	0	2,63	+ 10	2,55	+ 7
6 mois	2,54	-	-	2,89	+ 14	2,71	+ 7	2,65	+ 4
yenne	2,58 ± 0,06	2,89 ± 0,06	+ 11	2,78 ± 0,07	+ 8	2,95 ± 0,10	+ 14	2,96 ± 0,10	+ 15

Les Q_{O_2} sont exprimés en µl O_2 par mg de tissu sec par 20 minutes.

EFFET DE LA REALIMENTATION AU REGIME X_0 APRES INGESTION DU REGIME HV

N'ayant pu observer l'action de T_4 sur les oxydations du foie in vitro par simple adjonction de CoA au milieu, nous avons essayé de retrouver l'action de l'hormone sur la respiration, en agissant directement sur la teneur du foie en CoA. Disposant encore de quelques rats de cette même série soumis au régime HV depuis 5 mois, peu ou pas sensibles à la Thyroxine, nous avons laissé ces animaux au régime complet X_0 pendant une quinzaine de jours, après quoi nous avons étudié le comportement des coupes de leur foie vis-à-vis de la Thyroxine.

Le tableau 12 montre les résultats alors obtenus. Ils s'interprètent facilement si l'on admet qu'après 15 jours de régime équilibré, la plupart des animaux ont déjà reconstitué en partie leur stock de CoA. Les différences individuelles viennent du fait bien connu que les animaux reconstituent leur niveau normal de vitamines plus ou moins rapidement selon les individus. C'est sans doute la raison pour laquelle la dose la plus faible de Thyroxine est parfois plus efficace : la quantité de CoA n'ayant pas encore atteint son taux normal, il y aurait inhibition de la réaction entre le CoA et l'hormone, lorsque la proportion de Thyroxine présente est en quantité trop élevée par rapport au coenzyme.

Nous n'avons malheureusement pas pu disposer d'assez d'animaux pour en laisser un temps plus long au régime X_0, ce qui nous aurait permis de voir si la dose élevée de Thyroxine donnait alors des augmentations plus fortes.

DISCUSSION

Les observations faites sur les animaux nourris avec le régime HV déficient en niacinamide et pantothénate, puis sur les animaux soumis successivement aux régimes HV puis X_0, sont nettement en faveur d'un rôle capital joué par le CoA dans l'action de la Thyroxine sur le Q_{O_2} du foie.

TABLEAU 12

ACTION DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU FOIE D'ANIMAUX SOUMIS AU REGIME HV DURANT 5 MOIS, PUIS AU REGIME X_0 DURANT 2 SEMAINES

Rat	Durée du Régime X_0	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4		3.10^{-9} g T_4	
		Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δ p. 100	Q_{O_2}	Δ p. 100
149	13 jours	2,57	2,62	+ 2	2,72	+ 6
160	14 jours	2,37	3,06	+ 29	2,82	+ 19
141	15 jours	2,83	3,06	+ 8	3,38	+ 19
158	17 jours	2,38	2,54	+ 7	3,12	+ 31

Les Q_{O_2} sont exprimés en µl O_2 par mg tissu sec par 20 minutes.

Quelques autres faits relevés dans la littérature plaidaient en faveur du rôle joué par le CoA. Ce sont :

1 - les faits observés chez les microorganismes

2 - la relation existant entre l'état thyroïdien de l'animal et son niveau de CoA.

1/ Faits observés chez les microorganismes : tandis qu'aucun biologiste ne pouvait observer une action de T_4 sur la respiration des tissus animaux in vitro, MARX, WAINFAN et coll. (114, 68, 35) montraient que l'addition de T_4 au milieu glucosé augmentait la respiration de Aerobacter aerogenes de 50 à 110 %, celle de Saccharomyces cerevisiae de 15 à 36 % et celle de la levure de Fleichmann de 30 à 70 %. Or, l'on sait que les microorganismes, et particulièrement les levures, sont riches en coenzyme A.

2/ Relation entre l'état thyroïdien du Rat et la teneur de ses tissus en CoA : TABACHNICK et BONNYCASTLE (99) ont montré, que chez le rat, la teneur des tissus et plus particulièrement du foie en CoA, dépendait de son état thyroïdien.

Chez l'animal adulte, la teneur du foie en CoA diminue de 30 % après éthyroïdie. Mais 48 heures après l'injection de 150 µg de T_4 à cet animal, on observe une augmentation de 80 % du CoA hépatique.

Il semble donc que la teneur du foie en CoA se règle sur la quantité de Thyroxine de l'animal comme si le coenzyme était nécessaire à l'utilisation de l'hormone. Ceci suggère que la "non-réponse" du foie du rat âgé à T_4 pourrait tenir à un défaut en CoA.

Nous avons pensé mettre ce fait en évidence en nous adressant aux rats âgés nourris avec le régime X_0 depuis le sevrage. Nous avons montré dans notre seconde partie (cf. p. 47) que le foie des animaux âgés de 12 mois, bien que soumis au régime complet, ne répondait plus à la Thyroxine in vitro.

Or, OERIU (76) a montré que, chez le rat âgé, la teneur en niacimide et en pantothénate est diminuée. Il en résulte donc une baisse du CoA.

Nous avons alors attribué l'inefficacité de T_4 sur les oxydations du foie de l'animal âgé, à une déficience en CoA.

Or, de nombreux auteurs ont montré, que la synthèse de ce coenzyme pouvait être réalisée très rapidement in vivo, par simple injection de pantothénate.

- OLSON et KAPLAN, en 1948, montrent que l'injection intrapéritonéale de 10 mg pantothénate/100g poids corporel, double le coenzyme A du foie en 90-120 minutes, chez le canard.(77)

-en 1954, RINGLER et LEONARD (87) augmentent le CoA du foie de 48%, par simple injection de 5 mg de pantothénate à des Rats hypophysectomisés adultes. (87)

-CAUSI et coll. (21) constatent une augmentation rapide du CoA, après injection de 5 mg de pantothénate à des rats adultes.

- enfin LE VAN HUNG (exp. non publiées) observe le doublement de la valeur du CoA hépatique, 2 heures après l'injection de 15 mg pantothénate/100g poids corporel, à des rats de 5 à 6 mois.

Utilisant ces résultats, nous avons fait à des rats âgés des injections de pantothénate, afin d'observer comment la Thyroxine se comporterait vis-à-vis du foie de ces animaux, in vitro

Mise en évidence de la nécessité du CoA pour l'action de T_4

Comme nous ne disposions pas de rats Commentry âgés, nous avons fait nos essais sur des rats Gif. Nous avons, en effet, montré dans notre seconde partie (cf. p 36) que les foies des rats Gif ou Commentry répondaient de la même manière à l'addition de T_4 in vitro.

Les rats utilisés ont 15 mois, et sont nourris avec le régime complet équilibré.

Quelques animaux nous ont servi de témoins, tandis que des

autres recevaient une injection intrapéritonéale de pantothénate de calcium en solution dans le sérum physiologique, à raison de 15 mg pantothénate /100 g poids corporel. Les animaux sont tués soit 2 heures, soit 3 heures après cette injection puisque, selon les physiologistes cités ci-dessus, la synthèse du CoA est déjà réalisée.

Le tableau 12 bis nous montre que :

1 - les foies des rats témoins, n'ayant pas reçu d'injection de pantothénate, sont insensibles à l'hormone.

2 - les foies des rats ayant reçu une injection de pantothénate ont leurs oxydations nettement augmentées en présence de T_4

Ces expériences sont nettes. Elles nous permettent d'affirmer que la présence du coenzyme A est indispensable pour permettre l'action de la Thyroxine sur les oxydations, ainsi que nos premiers essais nous l'avaient fait supposer.

TABLEAU 12 bis

ACTION DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE DE RATS AGES. INFLUENCE DE L'INJECTION DE PANTOTHENATE

Rat	Dose de Pantothénate injecté	Témoin sans T_4	3.10^{-5} T_4	
		Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δ %
200	0	2.23	2.34	+ 5
201	0	2.35	2.35	0
205	15 mg/100 gr	2.22	2.47	+ 11
206	id	2.16	2.68	+ 24
207	id	2.13	3.10	+ 45
208	id	2.18	2.58	+ 18
209	id	1.95	2.58	+ 32
210	id	2.42	2.81	+ 16

Les Q_{O_2} sont exprimés en μl O_2 par mg tissu sec par 20 minutes.

CHAPITRE III

ROLE DES LIPIDES

Nos résultats nous ayant montré le rôle du CoA, nous étions amené à étudier l'influence exercée par le métabolisme lipidique sur l'action de la Thyroxine sur la respiration des coupes de foie in vitro .

Pour étudier la répercussion éventuelle du taux des lipides sur le comportement de la Thyroxine vis-à-vis de la respiration des tissus, nous avons utilisé deux types de Rats :

1 - les uns, nourris au régime équilibré X_0 depuis le sevrage, ont reçu à partir de l'âge de 6 mois un régime n'en différant que par la seule teneur en lipides : 5 p. 100 de saindoux au lieu de 10 p. 100 (régime HL)

2 - les autres étaient soumis depuis le sevrage au régime totalement lipidoprive LP. Leur généalogie ajoutait à ce caractère lipidoprive, puisqu'ils étaient issus de parents ayant reçu ce même régime depuis 4 ou 5 générations. Toutefois ces animaux reçoivent quotidiennement 50 mg d'acide linoléique afin de permettre leur reproductions (27). Nous insistons sur le fait qu'en dehors de l'absence totale de graisses, le régime LP a la même composition que X_0 , et renferme notamment les mêmes quantités de toutes les vitamines.

Nous avons successivement essayé l'action des doses 1×10^{-5} et 1×10^{-9} g/ml de Thyroxine sur la respiration du foie de ces Rats.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

L'âge des animaux utilisés dans cette étude varie de 7 à 10 mois.

Nous rappelons que, chez les animaux âgés de 7 et 9 mois, nour-

ris au régime X_0, la Thyroxine à la dose de 1 x 10^{-5} g/ml augmente la respiration des coupes de foie de 29 p. 100 et 19 p. 100 en moyenne (cf. tableau 4 p. 49)

I - Régime hypolipidique

Les résultats consignés dans le tableau 13 montrent que :

1 - l'ingestion du régime hypolipidique provoque une baisse des oxydations puisque chez des animaux du même âge, la moyenne passe de 2,46 à 2,01, soit une chute de 17 p. 100.

2 - ce régime diminue la sensibilité des systèmes d'oxydation à l'hormone : les coupes de foie de la moitié des animaux seulement ont leur Q_{O_2} augmenté en présence de la forte dose de Thyroxine, et dans 2 cas seulement (rats 56 et 57) la respiration est sensible à la faible concentration de l'hormone.

II - Régime lipidoprive

Le tableau 14 résume les résultats obtenus avec ces animaux. Nous constatons que :

1 - l'ingestion du régime lipidoprive n'a pas d'action sur la respiration in vitro du foie, qui demeure inchangée si l'on considère des foies d'animaux du même âge (moyennes de 2,45 et 2,51 respectivement pour les régimes X_0 et LP).

2 - dans tous les cas, l'effet de la Thyroxine sur le Q_{O_2} des coupes de foie tend à disparaître.

Les faits observés, aussi bien avec le régime hypolipidique qu'avec le régime lipidoprive, nous amènent à penser que la perte de sensibilité des oxydations à la présence de T_4 pour les foies des animaux ingérant ces régimes, est due à une déficience en CoA.

Chez ces animaux recevant peu ou pas de graisses, l'ampleur des réserves adipeuses restées sensiblement normales témoigne d'une synthèse

TABLEAU 13

ACTION DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE DE RATS SOUMIS AU REGIME HYPOLIPIDIQUE HL

Rat	Age	Durée du Régime	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4		3.10^{-9} g T_4	
			Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δp. 100	Q_{O_2}	Δp. 100
51	9 mois	2 mois	1,67	2,24	+ 34	-	-
52	9 mois	2 mois	1,56	1,68	+ 7	1,40	- 10
53	9 mois	2 mois	2,73	2,88	+ 5	2,37	- 13
54	9 mois	2,5 mois	2,23	2,72	+ 22	2,34	+ 5
55	9,5 mois	3 mois	2,11	2,04	- 3	2,17	+ 3
56	9,5 mois	3 mois	1,52	2,05	+ 35	2,02	+ 33
57	9,5 mois	3 mois	1,48	1,99	+ 34	1,74	+ 17
59	10 mois	4 mois	2,81	2,50	- 11	3,17	+ 13
Moyenne			$2,01 \pm 0,19$	$2,26 \pm 0,14$		$2,17 \pm 0,21$	

Les Q_{O_2} sont exprimés en μl O_2 par mg tissu sec par 20 minutes.

TABLEAU 14

ACTION DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE DE RATS INGERANT LE REGIME LIPIDOPRIVE LP

Rats	Age	Témoin sans T_4	3.10^{-9} g T_4		3.10^{-5} g T_4	
		Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δ p. 100	Q_{O_2}	Δ p. 100
s de la 4ème génération						
0	7,5 mois	1,97	1,92	- 2	1,91	- 3
2	7,5 mois	2,65	2,72	+ 3	2,92	+ 10
3	7,5 mois	2,37	3,10	+ 30	2,50	+ 5
4	7,5 mois	2,74	2,92	+ 7	3,05	+ 11
5	7,5 mois	2,85	2,85	0	2,75	- 3
enne		$2,51 \pm 0,15$	$2,70 \pm 0,20$		$2,62 \pm 0,20$	
s de la 5ème génération						
0 bis	8,5 mois	2,93	-	-	3,07	+ 5
1	8,5 mois	3,07	-	-	3,02	- 2

Les Q_{O_2} sont exprimés en µl O_2 par mg tissu sec par 20 minutes.

active des acides gras, ce qui entraîne une utilisation plus élevée du CoA. Il s'en suivrait une chute de concentration du CoA libre, disponible pour permettre la formation du dérivé de la Thyroxine, actif sur les oxydations.

CHAPITRE IV

ROLE DE LA TENEUR EN PROTEINES DES REGIMES

L'étude des rats ingérant, soit un régime déficient en niacinamide et acide pantothénique, soit un régime lipidoprive, nous a montré la nécessité absolue du CoA pour que T_4 puisse augmenter le Q_{O_2} des tissus.

Comme le CoA réagit souvent avec un radical acide, il était tout naturel d'envisager la transformation de T_4 en son dérivé acétique, transformation nécessitant l'intervention d'une amino-acide oxydase et d'une décarboxylase. Or, les protéines-enzymes sont synthétisées par les systèmes formateurs d'enzymes en fonction de l'apport en substrat, nous avons donc pensé que l'ingestion d'un régime plus ou moins hypoprotéique pourrait amener, par suite d'adaptation enzymatique, la disparition plus ou moins totale des enzymes intervenant dans cette transformation. En cas de "non-formation" de T_4A_1, pensions-nous, le CoA ne pourrait plus agir sur la Thyroxine, et celle-ci serait alors sans action sur la respiration des tissus.

Dans un premier temps, nous avons étudié l'influence d'une déficience partielle en protéines (régime L_{24} à 8 p. 100 de protéines au lieu de 22 p. 100) sur le comportement des tissus d'animaux ayant ingéré le régime standard X_0 jusqu'à 6 mois, ce qui comporte un état d'agression pour ces animaux. Tout déficit de l'apport en protéines et en acides aminés essentiels provoque en effet la perturbation d'une série de fonctions cellulaires, et touche en particulier à l'équipement enzymatique de la cellule.

Nous avons également étudié l'effet de ce même régime L_{24} sur des

Rats l'ingérant dès le sevrage, afin de voir s'ils réagissaient de même, ou s'il se produisait un état d'accoutumance, d'adaptation à ce régime.

Puis, nous avons examiné le rôle d'une déficience plus accusée avec le régime L_{25}, ne comportant que 5 p. 100 de protéines. Ce régime était donné dès le sevrage.

Nous donnerons successivement les résultats obtenus avec les différents régimes, puis à partir de ces résultats, nous essaierons de tirer une conclusion.

CONDITIONS EXPERIMENTALES

Les animaux utilisés dans cette étude sont des rats Wistar, souche Commentry, nés au laboratoire.

Les doses de Thyroxine utilisées sont 1×10^{-5} et parfois 1×10^{-9} g/ml.

Les animaux sont tous adultes au moment des mesures, et sont d'âge comparable, ce qui élimine les différences dues à ce facteur.

I - ACTION DU REGIME L_{24}

Nous envisagerons deux cas selon que le régime est donné :

a - à l'adulte de 6 mois

b - au jeune dès le sevrage

a/ Cas des animaux soumis au régime L_{24}, après avoir ingéré le régime standard X_0 jusqu'à 6 mois.

Les rats ingérant le régime L_{24} ont été divisés en 2 lots ; les animaux d'un des lots sont éthyroïdés, 8 jours après le début du régime hypoprotéique. Les animaux sont sacrifiés au moins I mois après thyroïdectomie.

D'autres rats du même âge sont maintenus au régime X_0, et la moitié d'entre eux sont éthyroïdés. Ces animaux nous servent de témoins par rapport à ceux ingérant le régime L_{24}.

Les résultats concernant les animaux nourris aux régimes X_0 et L_{24}, éthyroïdés ou non, sont consignés dans les tableaux 6 et 15. En résumé, les augmentations moyennes de la respiration du foie, en présence de T_4, sont les suivantes :

	non éthyroïdés	éthyroïdés
Rats au régime X_0	+ 34 %	+ 43 %
Rats au régime L_{24}	+ 9 %	+ 30 %

Un examen plus approfondi du tableau 15 nous montre que :

1 - l'ingestion du régime L_{24} entraîne une nette diminution de l'action de la Thyroxine sur les oxydations du foie. La respiration du tissu hépatique est devenue insensible à l'addition de l'hormone chez 8 animaux sur 11 ; les Q_{O_2} des foies des rats 39, 43, et 45 sont augmentés en présence de T_4.

2 - la thyroïdectomie fait baisser la respiration moyenne du tissu hépatique de ces rats de 28 % , valeur analogue à celle généralement observée par les divers expérimentateurs. Elle passe de 2,74 à 1,96. Cette chute est plus ample que celle que l'on constate dans le cas des animaux éthyroïdés soumis au régime témoin (chute de 17 %)

3 - après éthyroïdie, les tissus des animaux ingérant le régime L_{24} recouvrent leur sensibilité à l'hormone, puisque la respiration moyenne du foie passe de 1,96 à 2,54 en présence de 1×10^{-5} g/ml de Thyroxine, soit une augmentation de 30 p. 100.

La thyroïdectomie modifie donc le comportement du foie de ces animaux vis-à-vis de l'hormone.

4 - les animaux éthyroïdés nourris au régime hypoprotéique demeurent cependant moins sensibles à l'hormone que les animaux éthyroïdés ingérant le régime standard X_0, puisque les augmentations moyennes du Q_{O_2} du foie sont respectivement de 30 p. 100 et 43 p. 100 pour les animaux soumis au régime L_{24} ou X_0.

TABLEAU 15

ACTION DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE DE RATS NORMAUX OU ETHYROIDES, INGERANT LE REGIME L_{24}

Rats non opérés					Rats éthyroïdés				
	Age	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4		Rat	Age	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4	
		Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δp.100			Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δp. 100
	7mois	3,46	3,46	0	15	7 mois	2,17	2,72	+ 25
	7mois	2,51	2,59	+ 3	13	7 mois	2,43	3,19	+ 31
	7mois	3,27	4,85	+ 48	11	7 mois	2,40	3,34	+ 39
	7mois	2,72	2,79	+ 2	21	7 mois	1,95	2,58	+ 32
	9mois	2,08	1,92	- 7	12	9 mois	2,83	3,28	+ 15
	9mois	2,47	3,30	+ 33	18	9 mois	1,68	2,60	+ 54
	9mois	2,67	3,17	+ 18	20	9 mois	1,38	2,22	+ 61
	9mois	2,66	3,00	+ 13	22	9 mois	1,30	1,34	+ 2
	9mois	2,30	2,33	+ 1	19	9 mois	1,55	1,58	+ 2
	9mois	3,34	3,25	- 3					
	9mois	2,70	2,52	- 6					
ne		$2,74 \pm 0,13$	$3,01 \pm 0,24$	+ 9			$1,96 \pm 0,18$	$2,54 \pm 0,21$	+ 30

Les résultats sont exprimés en μl 0_2 par mg tissu sec par 20 minutes

La comparaison des moyennes des séries avec et sans thyroxine, selon le test en t de Student-Fisher, nous permet de conclure que la différence entre les 2 séries sont significatives avec un coefficient de sécurité de 95 %, chez les animaux éthyroïdés.

5 - il semble qu'après 4 mois de régime, les tissus des animaux éthyroïdés, soumis au régime hypoprotéique, perdent leur sensibilité à l'hormone

b/ Cas des animaux soumis au régime hypoprotéique L_{24} dès le sevrage.

Rappelons tout d'abord que les foies des animaux du même âge, mais ingérant le régime X_0, répondent immédiatement à l'action de la Thyroxine. L'augmentation moyenne de la respiration du tissu hépatique est de 20 p. 100 (cf. tableau 10 p. 70).

Les résultats obtenus avec les rats du même lot, mais nourris au régime L_{24}, figurent dans le tableau 16 (p.88).

La comparaison des tableaux 15 et 16 nous montre que l'animal soumis au régime hypoprotéique dès le sevrage semble mieux résister que l'animal qui y est soumis plus tardivement. Tandis que les tissus des rats soumis au régime hypoprotéique à l'âge de 6 mois sont déjà insensibles à la Thyroxine après 1 mois de ce régime, les jeunes rats soumis à cette déficience dès le sevrage conservent la sensibilité de leurs tissus à l'hormone durant 2 mois, parfois même durant 4 mois; toutefois, après 5 mois de ce régime, la Thyroxine n'augmente plus la respiration du tissu hépatique.

DISCUSSION

Ces diverses expériences faites sur les rats ingérant le régime hypoprotéique L_{24} nous montrent que :

- l'hypoprotéinisme a un effet beaucoup plus lent chez le Rat jeune que chez le Rat adulte.

- l'éthyroïdie retarde l'action de la déficience protéique chez le Rat adulte.

Ces faits suggèrent bien l'intervention, lors de l'augmentation du Q_{O_2} par T_4, de systèmes enzymatiques intervenant dans le catabolisme protéique. Ceci serait en accord avec les expériences de THIBAULT, selon

TABLEAU 16

EFFET DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE DU RAT INGERANT LE REGIME HYPOPROTEIQUE L_{24} DES LE SEVRAGE

Rat	Age	Témoin sans T_4	3.10^{-9} g T_4		3.10^{-5} g T_4	
		Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δp. 100	Q_{O_2}	Δp. 100
115	3,5 mois	2,23	2,58	+ 15	2,68	+ 20
103	3,5 mois	2,28	2,60	+ 14	2,64	+ 15
105	4 mois	2,64	3,03	+ 15	2,95	+ 12
102	4 mois	2,40	2,88	+ 20	2,58	+ 7
113	4 mois	2,97	2,75	- 7	2,66	- 10
101	4 mois	2,65	2,97	+ 12	2,96	+ 12
111	5 mois	2,57	3,12	+ 21	3,18	+ 24
107	5 mois	2,20	2,42	+ 10	2,67	+ 21
124	5,5 mois	2,51	2,94	+ 17	2,95	+ 17
117	5,5 mois	2,56	2,78	+ 8	2,65	+ 4
114	5,5 mois	2,56	2,53	- 1	2,91	+ 14
110	6 mois	2,25	-	-	2,31	+ 3
119	6 mois	2,15	-	-	2,26	+ 6
104	6 mois	2,51	-	-	2,56	+ 2
120	6 mois	1,90			1,97	+ 4
Moyenne		$2,42 \pm 0,07$				

Les Q_{O_2} sont exprimés en μl O_2 par mg tissu sec par 20 minutes.

lesquelles les dérivés acétiques seraient la forme active de l'hormone.

En effet, lorsque l'animal est partiellement privé de protéines, le pool des acides aminés est diminué ainsi que le catabolisme des protéines. En outre, les systèmes formateurs d'enzymes (SFE) conduisant aux enzymes liées au catabolisme des acides aminés (amino-acide oxydases et décarboxylases) vont diminuer par adaptation enzymatique, et il y aura disparition progressive des décarboxylases et des amino-acide oxydases. ROSS et ELY (96) WAINIO et coll. (115) ont effectivement montré que les amino-acide oxydases diminuaient lors de l'ingestion d'un régime protéinoprive.

Toutefois, chez le jeune soumis dès le sevrage au régime hypoprotéique, le métabolisme protéique est ralenti, d'où, pensons-nous, une adaptation enzymatique plus lente.

Dans le cas de l'éthyroïdie, le métabolisme est ralenti (52) par rapport à l'animal non éthyroïdé de sorte que les SFE subsistent plus longtemps; et les tissus de Rats éthyroïdés peuvent activer T_4 un temps plus long après le début de l'ingestion du régime que les tissus des Rats non opérés.

La déficience protéique empêche la transformation de la Thyroxine en son dérivé acétique.

Les considérations précédentes et les résultats obtenus en 1955 par THIBAULT et PITT- RIVERS (106) nous ont suggéré de remplacer la Thyroxine par son dérivé acétique. Ces auteurs avaient, en effet, observé que les tissus hépatiques et rénaux, insensibles à la Thyroxine, répondaient sans temps de latence à l'acide tétraiodothyroacétique.

Malgré les résultats contradictoires obtenus depuis, par les divers physiologistes, nous avons repris la question et examiné l'action de Tétrac sur la respiration du tissu hépatique, puis nous avons comparé son action à celle de la Thyroxine.

Nous avons tout d'abord fait cette étude sur des Rats sensibles à l'hormone, c'est-à-dire sur des animaux nourris au régime standard, après

quoi nous avons fait les mêmes mesures dans les mêmes conditions sur des animaux du même âge ingérant le régime hypoprotéique L_{24} depuis le sevrage.

Les résultats de ces expériences, consignés dans le tableau 17, montrent que :

1 - le Tétrac augmente immédiatement la respiration du tissu hépatique des animaux ingérant le régime X_0. Nos résultats confirment ceux de THIBAULT.

2 - le Tétrac augmente également la respiration du tissu hépatique des rats soumis au régime hypoprotéique L_{24}. Toutefois, ces animaux sont un peu moins sensibles à l'action du Tétrac, nous attribuons ce fait à une déficience partielle en CoA puisque selon HARKNESS et coll. (41), la teneur du foie en CoA diminue lors de l'ingestion d'un régime protéinoprive ; il est donc assez probable qu'une déficience partielle en protéines provoque une chute partielle de la quantité du CoA dans le foie.

Nous déduisons de cette expérience que l'insensibilité des tissus à la Thyroxine, chez les animaux nourris au régime hypoprotéique, est due à la disparition des enzymes impliquées dans la transformation de la Thyroxine en son dérivé acétique.

Des observations faites ces dernières années en France et à l'étranger, plaident en faveur de la nécessité d'une telle transformation pour permettre à la Thyroxine d'agir sur les oxydations.

1 - En 1959, NATAF et coll. (74) observaient, chez les Rats soumis à un régime protéinoprive depuis 50 jours, une nette augmentation de la quantité de Thyroxine circulante, par rapport aux animaux recevant un taux normal de protéines. Selon les auteurs eux-mêmes, ce fait pourrait s'expliquer par un défaut de l'utilisation périphérique de l'hormone.

2 - D'autre part, LARSON et coll. (50) , en 1960, montrent que si la l- T_4, active sur les oxydations, se transforme en son dérivé acétique, la d- T_4, inactive sur les oxydations, ne le fait pas. Les auteurs se demandent,

TABLEAU 17

ACTION COMPARATIVE DE T_4 ET DE T_4A SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE DE RATS NOURRIS AU REGIME X_0 OU L_{24}

Rat	Régime	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4		3.10^{-8} T_4A	
		Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δ p. 100	Q_{O_2}	Δ p. 100
188	X_0	2,32	3,51	+ 51	3,30	+ 42
189	X_0	2,17	2,60	+ 20	3,14	+ 45
190	X_0	2,49	2,90	+ 16	3,27	+ 31
191	X_0	1,76	2,30	+ 31	2,73	+ 55
192	X_0	2,12	2,74	+ 28	2,52	+ 19
110	L_{24}	2,25	2,31	+ 3	2,77	+ 23
119	L_{24}	2,15	2,28	+ 6	2,80	+ 30
104	L_{24}	2,51	2,56	+ 2	3,04	+ 21
120	L_{24}	1,90	1,97	+ 4	2,69	+ 39

Les Q_{O_2} sont exprimés en μl O_2 par mg de tissu sec par 20 minutes.

à la suite de cette observation, si l'inactivité de d-T_4 n'était pas due à son incapacité à se transformer en Tétrac.

Ces divers résultats nous amènent à nous interroger sur les transformation que doit subir la Thyroxine avant d'exercer ses effets.

Transformation de la Thyroxine précédant son action sur le O_2

L'emploi de régimes analogues, ne différant entre eux que par une déficience bien déterminée, nous a permis de mettre en évidence :

1 - la nécessité de la présence du CoA dans le tissu hépatique pour permettre l'action de T_4 : les foies des rats soumis aux régimes HV, LP ou des Rats âgés ne répondent pas par suite d'une déficience en CoA.

2 - la nécessité de la transformation de l'hormone en son dérivé acétique : chez les animaux soumis au régime hypoprotéique L_{24}, la concentration cellulaire et le degré d'activité des enzymes de désamination oxydative et de décarboxylation, ne permet plus la transformation de T_4 en T_4A, et l'hormone est sans effet sur la respiration, malgré une teneur suffisante du foie en CoA.

Cependant, la seule présence de T_4A ne suffit pas à augmenter la respiration du tissu hépatique, puisque ce dérivé est sans action sur le foie des animaux soumis aux régimes HV, LP ou sur celui des Rats âgés(tableau 18)

Il résulte de ces constatations que l'augmentation de la respiration des tissus en présence de T_4, ne peut avoir lieu que dans certaines conditions:

1 - la Thyroxine doit être transformée en son dérivé acétique

2 - ce dérivé acétique nécessite la présence de CoA pour exercer son action activante sur les oxydations cellulaires.

Nos expériences établissent nettement une série de faits qui appuient l'hypothèse de THIBAULT et PITT-RIVERS sur l'activité de Tétrac, ainsi que celle de LE BRETON et LE VAN HUNG sur le rôle du CoA dans l'activation de T_4.

TABLEAU 18

ACTION COMPAREE DE T_4 ET DE T_4A SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE DES RATS NOURRIS AUX REGIMES HV, LP ET DES RATS AGES

Rat	Régime	Témoin sans T_4	3.10^{-5} g T_4		3.10^{-8} g T_4A	
		$\bar{Q}O_2$	$\bar{Q}O_2$	Δ p. 100	$\bar{Q}O_2$	Δp.100
147	HV	2,34	2,63	+ 12	2,57	+ 10
153	HV	2,61	2,89	+ 10	2,99	+ 14
145	HV	2,38	2,38	0	2,57	+ 8
159	HV	2,54	2,89	+ 14	2,52	0
60 bis	LP	2,93	3,07	+ 5	3,08	+ 5
60	LP	3,07	3,02	- 2	3,02	- 2
200	X_0 âgé	3,23	2,34	+ 5	2,20	0
201	X_0 âgé	2,35	2,35	0	2,20	- 6

Les $\bar{Q}O_2$ sont exprimés en μl O_2/mg tissu sec/ 20 minutes.

2 - ACTION DU REGIME L_{25}

Nous avons soumis quelques rats au régime L_{25} contenant encore moins de protéine : 5 au lieu de 8p. 100.

Ce régime a été donné dès le sevrage, aussi avons-nous pu suivre régulièrement la croissance de ces animaux, et la comparer à celle d'animaux du même âge, mais ingérant les autres régimes utilisés par nous.

Nous avons établi les courbes de croissance moyenne de groupes de 10 animaux, du même âge, ingérant les régimes X_0, L_{24}, L_{25} ou HV.

L'examen de ces courbes de croissance nous a permis de faire les constatations suivantes :

1 - les animaux au régime X_0 ont une croissance régulière.

2 - la déficience en niacinamide et en acide pantothénique réalisée dans le régime HV est sans effet sur la croissance pondérale.

3 - les rats soumis aux régimes déficients en protéines accusent de grands troubles de la croissance. Au moment où les rats X_0 ont atteint 260 g, les rats L_{24} pèsent 186 g et les L_{25} pèsent 130 g. Toutefois, le régime L_{24} permet une croissance régulière, bien que lente. Il n'en va pas de même pour les animaux soumis au régime L_{25} à l'âge de un mois alors qu'ils pèsent en moyenne 90 g : ces rats accusent une chute de poids et ne retrouvent leur poids initial qu'après 18 jours ; à ce moment , la croissance reprend, bien que très ralentie; ceci suggère une adaptation au régime chez le jeune rat.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

Cette nouvelle baisse de 3p. 100 des protéines dans le régime retentit donc très nettement sur la courbe de croissance qui devient celle d'animaux carencés en nutriments indispensables, provoquant des arrêts de croissance. Il était intéressant d'examiner comment ce dernier groupe d'animaux se comporterait vis-àvis de la Thyroxine, au cours du vieillisse-

ment. Le tableau 19 rassemble ces résultats, et nous montre que les tissus des animaux mis au régime très hypoprotéique L_{25} dès le sevrage sont très sensibles à la Thyroxine durant un certain laps de temps. Ils le sont même plus que les animaux témoins du même âge ; toutefois, après 4 mois de régime, la sensibilité de leur foie vis-à-vis de la Thyroxine disparaît.

Nous constatons donc que cette forte diminution du taux des protéines dans le régime a retenti non seulement sur la courbe de croissance des animaux mais aussi sur la sensibilité des oxydations cellulaires à la Thyroxine ajoutée au milieu.

L'examen des tableaux 16 et 19 (p. 88 et 96) nous permet d'observer une différence de comportement entre les rats ingérant les régimes hypoprotéiques L_{24} et L_{25} dès le sevrage :

1 - à 3-4 mois, les tissus des rats ingérant le régime L_{25} sont plus sensibles à T_4 que les tissus des rats ingérant L_{24}.

2 - dès 4 1/2 mois, les tissus des rats nourris au L_{25} sont devenus peu sensibles à la Thyroxine, alors que les oxydations du foie sont encore sensibles à la présence de l'hormone, chez les animaux soumis au L_{24}.

3 - à partir de 5 1/2 mois- 6 mois, la Thyroxine n'augmente plus la respiration du foie, chez ces rats.

Par conséquent, les tissus des animaux soumis au régime L_{24}, à l'origine moins sensibles que ceux ingérant le régime L_{25}, conservent leur sensibilité à T_4, plus longtemps que ceux des rats ingérant le régime L_{25}. Dans le cas du régime L_{24}, nous avons vu que tout se passe comme si les tissus de ces animaux perdaient leur sensibilité à l'hormone par suite de la chute de concentration en apo-enzymes permettant la transformation de la Thyroxine en son dérivé acétique. Il est donc logique que l'ingestion d'un régime plus hypoprotéique provoque une disparition plus rapide de ces enzymes.

DISCUSSION

Mais alors comment expliquer, que durant les premiers mois de l'ingestion, les tissus des animaux ingérant le régime L_{25} soient plus sensibles

TABLEAU 19

EFFET DE T_4 SUR LA RESPIRATION DU TISSU HEPATIQUE D'ANIMAUX NOURRIS AU REGIME HYPOPROTEIQUE L_{25} DES LE SEVRAGE

Rat	Age	Témoin sans T_4	3.10^{-9} g T_4		3.10^{-5} g T_4	
		Q_{O_2}	Q_{O_2}	Δp. 100	Q_{O_2}	Δ p. 100
132	3 mois	2,85	3,14	+ 10	3,75	+ 31
140	3 mois	2,95	3,71	+ 26	3,70	+ 25
150	3 mois	2,09	2,37	+ 13	2,58	+ 23
131	3,5 mois	2,69	3,10	+ 15	3,22	+ 20
142	4 mois	2,26	2,76	+ 22	2,99	+ 32
144	4 mois	1,62	2,83	+ 75	3,08	+ 90
130	4,5 mois	2,41	2,55	+ 6	2,64	+ 10
128	5 mois	2,25	2,44	+ 8	2,59	+ 15
139	5 mois	2,30	2,61	+ 13	2,55	+ 11
Moyenne		$2,38 \pm 0,14$	$2,83 \pm 0,14$		$3,01 \pm 0,16$	

Les Q_{O_2} sont exprimés en µl O_2 par mg tissu sec par 20 minutes

à la Thyroxine que les tissus des rats soumis au régime L_{24} . L'examen des courbes de croissance permet d'expliquer cette apparente contradiction.

Ces courbes mettent en évidence que la sous-alimentation va jusqu'a l'arrêt de croissance, chez les animaux nourris au régime à 5 p. 100 de protéines. Or, les revues de ZUBIRAN et GOMEZ-MONT(124), LEATHEM (52) rapportent que l'inanition et les carences protéiques ont des répercussions importantes sur les glandes endocrines. La thyroïde, les surrénales et la pituitaire sont atrophiées ; et l'on a constaté une diminution de l'activité fonctionnelle de ces 2 dernières glandes.

Nous avons vu, au chapitre précédent, que la cortisone s'oppose à l'action de la Thyroxine, et que les animaux surrénalectomisés sont beaucoup plus sensibles à T_4 que les témoins, puisque les augmentations consécutives à l'addition de Thyroxine sont respectivement de 28 p. 100 et 11 p. 100 en moyenne (cf. tableaux 7 et 8 p. 59 et 60).

En outre, rappelons que DONHOFFER (23), VARNAI et FARKAS (112) ont montré que les animaux hypophysectomisés sont beaucoup plus sensibles aux hormones thyroïdiennes que les animaux intacts. Si donc, l'hypophyse est atrophiée, il est normal que les animaux soient plus sensibles à la Thyroxine.

Nos résultats, quoique surprenants au premier abord, seraient donc en accord avec les faits observés in vivo dans les cas des rats dénutris.

Toutefois, au bout d'un certain temps, ces hypofonctionnements glandulaires ne peuvent continuer à compenser la déficience de l'apport protéique, et l'hormone n'est plus transformée en dérivé actif. Les systèmes enzymatiques permettant la transformation rapide de T_4 en Tétrac ne sont plus disponibles, nous ne pouvons plus observer in vitro l'augmentation immédiate du Q_{O_2} par la Thyroxine.

L'examen des animaux soumis à un régime très hypoprotéique nous a permis de mettre en évidence l'importance des influences que les glandes

endocrines exercent les unes sur les autres. En effet, par suite de l'hypofonctionnement de l'hypophyse et des surrénales comportant la chute de concentration en hormones antagonistes de T_4, la Thyroxine augmente nettement la respiration du foie d'animaux qui, normalement, devraient être peu ou pas sensibles à l'hormone, en raison du faible apport protéique alimentaire.

CHAPITRE VI

CONCLUSIONS DE LA QUATRIEME PARTIE

L'importance du régime, soupçonnée dès le début de nos expériences, s'est affirmée capitale tout au long de cette étude concernant les facteurs alimentaires.

Les régimes synthétiques donnés aux animaux étant préparés au laboratoire, nous avons eu la possibilité de faire varier la teneur de tel ou tel constituant, et d'en examiner la répercussion sur la sensibilité du Q_{O_2} du tissu hépatique à la Thyroxine. Nous avons ainsi étudié l'influence de l'acide pantothénique et de la niacinamide, vitamines impliquées dans la synthèse du CoA (régime HV, déficient en ces vitamines), des lipides (régimes HL et LP à 5 % et 0 % de lipides), des protéines (régimes L_{24} et L_{25} à 8 et 5 % de protéines).

L'étude simultanée de ces divers régimes nous a amené à observer un certain nombre de faits. Nous avons ainsi pu montrer que la Thyroxine devait se transformer avant d'agir, et que la présence du CoA était indispensable.

T Tandis que les foies des animaux nourris à un régime bien équilibré sont sensibles à l'addition de T_4 in vitro, les tissus des Rats ingérant des régimes analogues, mais déficients en tel ou tel constituant déterminé, ne répondent plus ou peu à l'action de T_4.

1 - la déficience en niacinamide et pantothénate (régime HV) rend les tissus des animaux insensibles à T_4.

Nous avons montré que cette "inefficacité" de T_4 est due à la faible

teneur du foie en CoA, puisque la synthèse de ce coenzyme provoquée soit par réalimentation avec le régime complet X_0, soit par injection de pantothénate, rend les tissus de ces animaux sensibles à T_4.

2 - la déficience du régime en lipides (régimes HL et LP), elle aussi, perturbe la réponse du tissu à l'addition de Thyroxine. Dans ce cas encore, le CoA est en cause puisque chez ces animaux, l'existence de réserves lipidiques abondantes malgré un apport réduit ou nul des graisses exogènes, est la preuve d'une synthèse de novo accrue des acides gras, ce qui nécessite une plus grande utilisation du CoA ; ce dernier, alors, n'est plus disponible pour d'autres réactions.

3 - la déficience en protéines a des effets différents , selon le degré de cette carence.

a/ le régime à 8 % de protéines (régime L_{24}) entraîne peu à peu une perte de la réponse du tissu à T_4, ce qui suggère l'intervention d'un phénomène enzymatique. Effectivement, tandis que le foie de ces animaux ne répond plus à T_4, il demeure sensible à T_4A, ce qui indique que, pour agir, la Thyroxine doit se transformer en son dérivé acétique, transformation nécessitant une amino-acide oxydase et une décarboxylase.

Toutefois, cette transformation ne suffit pas, puisque T_4A reste aussi peu actif que T_4 sur les foies provenant d'animaux nourris au régime HV. .Pour que le dérivé acétique ou la Thyroxine puissent agir sur le tissu hépatique des Rats, il faut que la teneur du foie en CoA atteigne un certain niveau.

L'ensemble de nos résultats met donc en évidence :

1 - la nécessité de la transformation de la Thyroxine en son dérivé acétique

2 - la nécessité de la présence de CoA pour permettre l'action de T_4A sur les oxydations.

Mais il reste à envisager le mécanisme selon lequel le CoA interviendrait ; il pourrait :

1 - soit réagir avec le dérivé acétique pour donner l'ester tétra-iodothyroacétyl coenzyme A, ainsi que le suggéraient LE BRETON et LE VAN HUNG en 1956 (55) ; cet ester constituerait le dérivé actif.

2 - soit intervenir au niveau du substrat à oxyder en favorisant la formation d'acétyl CoA. Cette seconde hypothèse nous semble devoir être retenue en raison de divers arguments, dont certains sont empruntés aux résultats de LE VAN HUNG lui-même et en raison du rôle joué par l'acide pantothénique lors de l'action de la Thyroxine sur les oxydations.

On sait en effet que la déficience en acide pantothénique du régime ingéré par les animaux provoque une baisse de la teneur des tissus (foie) en CoA (77), ce qui entraîne une diminution de l'utilisation du pyruvate (77) et une chute de l'acétylation du PAB (86). Inversement, l'injection de pantothénate de Ca à ces animaux, ramène ces diverses valeurs à leur taux normal.

Ce phénomène se retrouve chez les microorganismes, puisque NOVELLI et LIPMANN (75) ont observé que S. cerevisiae n'utilise totalement l'acétate du milieu, que si la teneur en CoA est élevée.

Une fois formé, l'acétyl CoA peut :

- entrer dans le cycle de l'acide tricarboxylique
- permettre la synthèse des acides gras
- servir à l'acétylation

Nous pensons que T_4A interviendrait au niveau de l'acetyl CoA, en détournant une plus grande proportion d'acétyl CoA vers le cycle de l'acide tricarboxylique. On sait du reste, que certaines substances intervenant à ce niveau sont sensibles à l'action de T_4, puisque chez les Rats ayant reçu de la Thyroxine, on observe une nette augmentation du cyt C, de la cytochrome oxydase et de la succinoxydase du foie (66).

Cette interprétation expliquerait certaines de nos observations ainsi que d'autres constatations antérieures relevées dans la littérature, et que nous allons brièvement rapporter.

1 - en 1959, LE VAN HUNG (61) observait sur le foie de pigeon que :

- l'addition du CoA seul augmentait l'acétylation du PAB sans modifier le Q_{O_2}

- l'addition de T_4 seule était sans effet sur l'acétylation et sur le Q_{O_2}

- l'addition simultanée de CoA et T_4 diminuait l'acétylation et augmentait le Q_{O_2}.

Dans cette expérience, l'acétyl CoA présent dans le foie serait utilisé pour la seule acétylation du PAB lorque T_4 est absente ; en présence de PAB et de T_4, l'acétyl CoA servirait à l'acétylation du PAB et entrerait également dans le cycle de Krebs, ce qui expliquerait que, dans les conditions expérimentales réalisées par l'auteur, l'acétylation diminue tandis que les oxydations augmentent en présence de l'hormone.

2 - en 1960, CAMPBELL et coll. (20) observaient que, chez les Rats soumis au froid, la teneur du foie en CoA augmente nettement (+ 45 % après 3 jours), tandis que simultanément la capacité acétylante du foie diminuait.

Cette apparente contradiction nous semble expliquée si l'on admet que l'acétyl CoA, dans le cas des animaux soumis au froid, est drainé vers la voie du cycle de Krebs dans une proportion beaucoup plus importante par suite de l'augmentation de la concentration en T_4 du tissu, consécutive à l'hypersécrétion de la thyroïde chez le Rat soumis au froid.

3 - enfin, nous observons que, in vitro, les oxydations des foies des rats soumis au régime lipidoprive, ne sont pas augmentées en présence de T_4. Or, l'ampleur des réserves de graisses témoigne d'une synthèse active des acides gras ; cette synthèse se faisant à partir de l'acétyl CoA, il n'en resterait plus une quantité suffisante disponible pour les autres voies métaboliques, notamment l'oxydation, d'où l'inefficacité de T_4 sur le Q_{O_2} du tissu hépatique de ces animaux.

Quoiqu'il en soit, le nombre de réactions impliquées lors de l'action

de la Thyroxine sur les oxydations permet d'expliquer les résultats contradictoires obtenus par les divers biologistes lors de leurs recherches concernant l'action de T_4 ou de son dérivé acétique sur la respiration des tissus. Les auteurs utilisaient bien un milieu identique pour la mesure de la respiration, mais les tissus étaient prélevés sur des Rats ingérant des régimes commerciaux de composition indéterminée.

Pour la plupart des expérimentateurs, la Thyroxine était inactive, in vitro ; en ce qui concerne T_4A, les avis étaient plus partagés. Or, nous savons maintenant que l'inefficacité de T_4 peut être due,soit à une déficience en certaines enzymes, soit à une déficience en CoA ; l'inefficacité de Tétrac ne serait due qu'à une déficience en CoA. Ce dernier dépend de l'apport alimentaire en acide pantothénique et en niacinamide, et comme il est impliqué dans un grand nombre de réactions métaboliques, il peut se trouver en quantité trop faible pu être totalement utilisé, de sorte qu'il ne reste plus de CoA disponible pour assurer l'introduction des dérivés acétiques de la Thyroxine dans le cycle des oxydations.

b/ Le régime encore plus déficient en protéines (L_{25} à 5 % de protéines) met en relief l'importance de l'état hormonal du sujet, fait que nous avions déjà observé dans notre seconde partie, lors de l'étude faite sur les foies de Rats surrénalectomisés(cf. p. 58).

La prochaine étape de nos recherches comportera la mise en évidence de la formation de Tétrac à partir de la Thyroxine marquée à 13 1 I dans les broyats de foies provenant de Rats soumis à divers régimes.

Nous examinerons également comment le Tétrac et le CoA interviennent, et nous essaierons de préciser à quel niveau de la chaîne des oxydations l'hormone agit.

Mais il ressort des recherches exposées ici, concernant l'influence de divers nutriments sur l'activation des oxydations cellulaires par T_4 que

l'action de cette hormone dépend du métabolisme général de l'animal régi par la composition du régime auquel il est soumis et par son fonctionnement hormonal, lesquels sont d'ailleurs étroitement liés.

RESUME ET CONCLUSIONS GENERALES

Dans ce mémoire, nous exposons nos recherches concernant l'activation *in vitro* des oxydations d'un tissu par la Thyroxine.

Les effets de cette hormone sur les oxydations globales d'un homéotherme placé dans les conditions du métabolisme basal ont été très étudiés, et sont bien connus. Un certain temps de latence précède toujours l'augmentation des échanges, et l'on s'est longtemps interrogé sur la signification de ce temps de latence. Il est, d'autre part, classiquement admis que la Thyroxine ajoutée au milieu d'incubation n'augmente pas les oxydations des tissus *in vitro* : cette augmentation ne s'observe que s'ils sont prélevés sur l'animal ayant reçu l'hormone depuis suffisamment de temps pour que le métabolisme de base soit augmenté. Il n'y aurait donc pas action immédiate de la Thyroxine sur les oxydations.

I - Nous discutons dans la 1ère partie de ce travail, les diverses théories émises pour expliquer la signification du temps de latence. L'examen critique de ces théories nous amène à ne retenir que l'hypothèse de THIBAULT et PITT-RIVERS faisant du dérivé acétique de la Thyroxine la forme active de l'hormone, hypothèse complétée par celle de LE BRETON et LE VAN HUNG, suggérant l'intervention du coenzyme A, lors de l'activation de l'hormone thyroïdienne.

II - Dans la seconde partie, nous indiquons nos conditinns expérimentales et décrivons les techniques utilisées (Chap. I). Puis, dans les chapitres suivants, nous exposons nos expériences montrant que le tissu hépatique prélevé sur des rats élevés au laboratoire et soumis au régime X_0 accusait une augmentation immédiate du Q_{O_2} après addition de Thyroxine au milieu

Tyrode glucosé . Nous observons ce fait chez les rats Wistar de deux souches (Commentry ouGif), qu'il s'agisse de coupes ou d'homogénats , mais pour des concentrations différentes d'hormone : 1×10^{-13} g/ml pour les homogénats, 1×10^{-5} ou 1×10^{-9} g/ml pour les coupes. Cette différence s'explique par une meilleure diffusion de l'hormone vers les sites d'oxydation et, pensons-nous, par une formation plus rapide du dérivé actif, dans le cas de l'homogénat.

Ces premiers résultats suggéraient l'importance du régime ingéré par l'animal : l'addition de T_4 à des coupes de tissu d'animaux de même souche et même âge, augmentent ou non le Q_{O_2} , selon le régime reçu. Dans leurs expériences, LE BRETON et LE VAN HUNG devaient ajouter du CoA aux coupes provenant de rats soumis à un régime commercial ; dans nos expériences, faites sur des rats nourris au régime bien équilibré X_0, l'addition de CoA n'est plus utile pour permettre l'action immédiate de l'hormone.

III - Dans la 3ème partie, nous avons recherché les effets des conditions physiologiques de l'animal sur la réponse de ses tissus à l'addition de Thyroxine in vitro. Cette étude et les suivantes ne portent que sur des rats souche Commentry. Nous avons mis en évidence l'influence de :

I - l'âge (chap. 1) -Nous observons que les oxydations des tissus du Rat sont sensibles à la Thyroxine, si l'animal est sacrifié à un âge compris entre 3 mois et 1 an ; en dehors de ces limites, le tissu hépatique ne répond généralement pas à l'action de l'hormone in vitro . L'insensibilité des oxydations des tissus du jeune animal ne peut s'expliquer par un niveau d'activité maximale, non susceptible d'augmentation sous l'influence de l'hormone, puisque le Q_{O_2} du tissu hépatique est peu différent, que l'animal ait 2 mois ou soit adulte. On peut supposer, soit qu'il existe chez le jeune rat un "inhibiteur" s'opposant à l'action de l'hormone sur les oxydations et disparaissant avec l'âge, soit que l'un des systèmes enzymatiques intervenant dans le mécanisme complexe d'activation de la Thyroxine se trouve en état de "répression".

2 - le sexe (chap; 11). nous constatons in vitro une moindre sensibilité des oxydations du tissu hépatique vis-à-vis de la Thyroxine chez la femelle, trouvant son explication dans l'antagonisme oestrogènes-Thyroxine, relevé in vivo par de nombreux auteurs.

3 - l'état hormonal (chap. 111) de l'animal. Il a également une grosse influence sur la réponse du tissu à la Thyroxine.

a/ la surrénalectomie : favorise l'action de la Thyroxine sur la respiration du tissu (augmentation moyennes respectives de 11 % et 28 % chez les rats témoins ou surrénalectomisés), fait que nous attribuons à la suppression de la cortisone, hormone antagoniste de la Thyroxine.

b/ l'éthyroïdie a des répercussions plus ou moins importantes sur la réponse du tissu à l'hormone, selon le régime ingéré par l'animal : tandis que les foies du rat nourri au X_0 répondent aussi bien que l'animal ait subi ou non la thyroïdectomie (augmentations des Q_{0_2} de 43% et 34 % respectivement), les foies du rat adulte soumis au régime hypoprotéique depuis 1 mois ne répondent à l'hormone que si l'animal est éthyroïdé.

IV - Dans la 4ème partie, nous étudions l'influence des conditions nutritives sur la réponse immédiate des oxydations du tissu hépatique à la Thyroxine.

Ayant mis en évidence les caractéristiques que doivent présenter les rats nourris au régime bien équilibré X_0, pour que la Thyroxine augmente les oxydations sans temps de latence, nous avons pu, en nous adressant à des Rats mâles adultes, âgés de 3 à 6 mois, étudier l'influence de divers facteurs nutritifs. Ces recherches apportent une contribution à l'étude des mécanismes dont dépend l'action de T_4 sur les oxydations.

1- Lorsque le rat ingère un régime hypoprotéique, par ailleurs bien équilibré en vitamines du groupe B, et ne provoquant pas de foie gras, on constate que la Thyroxine devient sans action sur le Q_{0_2} du foie in vitro. Par contre, si l'on ajoute au Tyrode glucosé, non plus la Thyroxine, mais son dérivé acétique, le Tétrac T_4A, on observe une augmentation immédiate

du Q_{O_2}. Ceci nous a conduit à admettre que chez ces rats partiellement protéinoprive; il y a déficience ou inhibition des systèmes enzymatiques impliqués dans la transformation de la Thyroxine en Tétrac. Par suite de l'éthyroïdie, la chute de concentration en ces protéines-enzymes serait ralentie. Il s'agit là d'enzyme susceptibles d'adaptation métabolique.

2 - Si les animaux ont ingéré un régime déficient en niacinamide et acide pantothénique, ou un régime soit hypolipidique, soit totalement lipidoprive, ni la Thyroxine, ni son dérivé acétique ne peuvent provoquer l'augmentation des oxydations du tissu hépatique in vitro. Nous attribuons ce fait à une déficience en CoA disponible au niveau du tissu prélevé, puisque après augmentation de la teneur du foie en CoA, consécutive à l'ingestion ou à l'injection de pantothénate, la Thyroxine augmente les oxydations du tissu hépatique.

Dans le dernier chapitre de cette 4ème partie, nous recherchons la signification des faits mis en évidence grâce à l'ingestion de divers régimes. Leur interprétation la plus rationnelle est en faveur d'une nécessaire transformation de l'hormone en un dérivé actif, responsable de l'action sur les oxydations tissulaires. Cette activation de l'hormone comporterait deux phases :

a/ transformation de la Thyroxine en son dérivé acétique par désamination oxydative et décarboxylation de la chaîne alanine.

b/ intervention de ce dérivé acétique dans la chaîne des oxydations, nécessitant la présence de CoA.

Nos recherches ont établi les conditions requises pour permettre l'activation immédiate de la Thyroxine et par conséquent son action sur les oxydations. Nous pourrons dès lors, aborder le second aspect de ce problème, à savoir la localisation de cette action hormonale. Nous nous proposons de déterminer plus particulièrement quel est le rôle du CoA, comment le Tétrac intervient dans la chaîne des oxydations, et à quel niveau de cette chaîne agit l'hormone.

D'ores et déjà, ces premières recherches permettent d'expliquer les résultats contradictoires obtenus jusqu'à présent par les divers biologistes étudiant l'action des hormones thyroïdiennes ou de leurs dérivés acétiques sur la respiration des tissus in vitro. Elles montrent également que les transformations subies par la Thyroxine lors de son activation, ne sauraient être considérées comme indépendantes du métabolisme général de l'organisme ; elles s'y intègrent, et leur niveau est régi par la présence de certains nutriments et par l'état hormonal du sujet.

BIBLIOGRAPHIE

I - ALBRIGHT E. C. , LARSON F. C. , TOMITA K. et LARDY H.A.
Endocr. , 59, 252 - 5, 1956

2 - ALBRIGHT E. C. , TOMITA K. , LARSON F. C.
Endocr. , 64 , 208 -15, 1959

3 - ALEXANDER W. D. , BISSET S.K.
Lancet, 2,1265, 1958

4 - ANDICK J., BALOGH L. , DONHOFFER Sz. , MESTYAN Gy.
Exper. , 5 , 211 - 13, 1949

5 -ANSELMINO K. J. , EICHLER D. , SCHLOSSMANN H.
Biochem. Ztsch. , 205 , 481 -9 , 1929

6 - ASPER S.P. , SCLENKOW M.A. , PLAMONDON C.A.
Johns Hopk. Hosp. Bull. , 93 , 164 , 1953

7 - BARKER S.B. , KLITGAARD H.M.
Amer. Jour. Physiol. , 170 , 81 -7 , 1952

8 - BARKER S.B.
Physiol. Rev., 31 , 205 - 44 , 1951

9 - BARKER S.B. , LEWIS W. J.
Proc. Exptl. Biol. Med. , 91 , 650 -55 , 1956

10 - BARKER S. B.
Endocr. , 59 , 548 -54 , 1956

11 - BARKER S.B. , KIELY C.E. , LIPNER H.J.
Endocr. , 45 , 624 -8 , 1949

12 - BASTENIE P. A. , KOWALEWSKI K.
C. R. Soc. Biol. , 145 , 772 -7 , 1951

13 - BASTENIE P. A. , ERMANS A. M.
Endocr. , 62 , 245 -50 , 1958

14 - BELASCO I. J. , MURLIN J. R.

Endocr. , 28 , 145 -51 , 1941

15 - BELASCO I. J.

Endocr. , 28 , 153 -60 , 1941

16 - BENEDICT F. G. , Mc LEOD G.

Jour. Nutr. , 1 , 343 -67 , 1928

17 - BENEDICT F. G. , Mc LEOD G.

Jour. Nutr., 1 ; 367 -99 , 1928

18 - BISSET S. K. , ALEXANDER W.D.,CROOKS J.

Biochem. Jour. , 76 , 20 P,1960

19 - BOOTHBY W. M. , SANTIFORD I.

Physiol. Rev. , 4 , 69 -162 , 1924

20 - CAMPBELL J. , GREEN G. R. ,SCHONBAUM E., SOCOL H.

Feder. Proc. , 19 (Suppl. 5), 124 - 25 , 1960

21 - CAUSI N. , ROMANO A. , GALFANO G.

Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. , 34 , 1634, 1958

22 - DICKENS F. , SALMONY D.

Biochem. Jour. , 64 , 645 -51 , 1956

23 - DONHOFFER Sz.

Acta Physiol. Hung. , 10 , 131 - 32 , 1956

24 - DONHOFFER Sz. ,VARNAI I., SZIEBERTH-HORVATH E.

Acta Physiol. Hung. , 14 , 265 -72 , 1958

25 - DUMONT J. , ERMANS A. M. , GALPERIN H.

C.R. Soc. Biol. , 153 , 360 -3 , 1959

26 - von EULER U. S.

Arch. Intern. Pharmacodyn. , 42 , 278 -81 , 1932

27 - FERRET S.

Arch. Sci. Physiol. , I4 , 175 -215 , 1960

28 - FEUER G.

Acta Physiol. Hung. , 13 , 283 -91 , 1958

29 - FEUER G. , BOROSS L. , KEREKES L.

Acta Physiol. , Hung. , 13 , 291-301 ,1958

30 - FRAENKREL-CONRAT J. , GREENBERG D.M.

Proc. Soc. Exper. Biol. Med. , 63 , 537-8 ,1946

31 - GALTON V.A. , PITT-RIVERS R.

Biochem. Jour. ,72,319-22 , 1959

32 - GORDON E. S. , HEMING A.E.

Endocr. , 34 , 353-61 , 1944

33 - GROSS J. , PITT-RIVERS R.

Rec. Progr. Horm.Res. , 10 , 109-15 , 1954

34 - GROSS J. , PITT-RIVERS R. , THIBAULT O;

C.R. Soc. Biol. , 147 , 75-78 , 1955

35 - GUTENSTEIN M. , MARX W.

Journ. Boil. Chem. , 229 , 559-603 , 1957

36 - HAARMAN W.

Arch. f. exper. Pathol. Pharmakol. , 180, 167-82, 1936

37 - HAREL L. , JACOB A.

C.R. Acad. Sci. , 241, 905-8 , 1955

38 - HAREL L. , JACOB A., MOULÉ Y.

Bull. Soc. Chim. Biol. , 39 , 819-32 , 1957

39 - HARINGTON C.R.

Biochem. Jour. , 20 , 293-300 , 1926

40 - HARINGTON C.R. , BARGER C.

Biochem. Jour., 21 , 169, 1927

41 - HARKNESS D. M. , SEIFTER S. , NOVIC B. , MUNTWYLER E.

Arch. Biochem. , 22 , 204-8, 1949

42 - HEIMBERG M. , PARK J. H. , ISAACS A . , PITT-RIVERS R.

Endocr. , 57, 756-9 , 1955

43 - HEMING A.E., HOLTKAMP D.E.

Feder. Proc. , 12 , 330 , 1953

44 - HILL S.R. , BARKER S.B. , Mc. NEIL J.H. , TINGLEY J.O. , HIBBETT L.L.

Jour. Clin. Invest. , 39 , 523-34 , 1960

45 - JACOB A.

C.R. Acad. Sci. , 252 , 3133-35 , 1961

46 - KENDALL E. C.

Jour. Amer. Med. Assoc. , 64 , 2042 , 1915

47 - LAIRD A. K. , NYGAARD O. , RIS H., BARTON A.D.

Exper. Cell Res. , 5 , 147-61 , 1953

48 - LARDY H. , TOMITA K. , LARSON F.C. , ALBRIGHT E.C.

Coll. Ciba Found. , 10 , 156-68 , 1957

49 - LARSON F.C. , TOMITA K. , ALBRIGHT E.C.

Endocr. , 57 , 338-45 , 1955

50 - LARSON F.C. , TOMITA K. , ALBRIGHT E.C.

Endocr. , 65 , 336-40 , 1960

51 - LASSITER W. E. , STANBURY J. L.

Jour. Endocr. Metab . , 18 , 903 , 1958

52 - LEATHEM J. H.

Rec. Progr. Horm. Res. , 14 , 170 , 1958

53 - LE BRETON E. , SCHAEFFER G.

C. R. Soc. Biol. , 118 , 445-8 , 1935

54 - LE BRETON E. , SCHAEFFER G.

C.R. Soc. Biol. , 118 , 448-51 , 1935

55 - LE BRETON E. , LE VAN HUNG

C.R. Acad. Sci. , 242 , 1357-59 , 1956

56 - LE BRETON E. , JACOB A. , LE VAN HUNG , REMOLINA T.

C.R. Acad. Sci. , 249 , 460-2 , 1959

57 - LE BRETON E. , JACOB A. , LE VAN HUNG , REMOLINA T.

C. R. Acad. Sci. , 249 , 769-71 , 1959

58 - LERMAN J.

Jour. Clin. Endocr. Metab. , 13 , 1341-47 , 1953

59 - LE VAN HUNG , DELOST P.

Arch. Sci. Physiol. , 6 , 381-90 , 1952

60 - LE VAN HUNG

Thèse- Paris 1954

61 - LE VAN HUNG

C.R. Soc. Biol. , 153 , 1007-10 , 1959

62 - LISSITZKY S.

Bull. Soc. Chim. Biol. , 42 , 1187-1207 , 1961

63 - MACLAGAN N.F. , SPROTT W.E., WILKINSON J. H.

Lancet , 2 , 915-16 , 1952

64 - MACLAGAN N.F. , SPROTT W.E.

Lancet , 2 , 368 , 1954

65 - MAGNUS-LEVY A.

Berl. Klin. Wschr. , 32 , 650 , 1895

66 - MALEY G.F.

Amer. Jour. Physiol. , 188 , 35-40 , 1957

67 - MANSFELD G.

Klin. Wschr. , 25 , 884-9 , 1935

68 - MARX W. , GUTENSTEIN M.

Feder. Proc. , 16 , 217, 1957

69 - MASCITELLI-CORIANDOLI E.

Naturwiss. , 46 , 561 , 1959

70 - MAYER G., KLEIN M.

Nutrition et glandes endocrines , 385 -417 , 1961, éd. CNRS

71 - MEITES J., NELSON M.M.

Vit. Horm. , 18 , 213-16 , 1960

72 - MEYER. , MERTZ

Endocr. , 24 , 683 , 1939

73 - MURRAY

cité par ABELIN dans :

Handb.der norm. und pathol. Physiol. 16/1 , 97-237 , 1891

74 - NATAF B. , SFEZ M. , ASCHKENASY A. , ROCHE J.

C. R. Soc. Biol. , 153 , 1932-35 , 1959

75 - NOVELLI G.D. , LIPMANN F.

Jour. Biol. Chem. , 171 , 833-34 , 1947

76 - OERIU S.

5ème congr. intern. bioch. , Moscou 1961

77 - OLSON R. E. , KAPLAN N.O.

Jour. Biol. Chem. , 175 , 514-29 , 1948

78 - PITT-RIVERS R.

Lancet , 2 , 234 , 1953

79 - PITT-RIVERS R. , THIBAULT O.

C.R. Acad. Sci., 240 , 668-70 , 1955

80 - PITT-RIVERS R. , TATA J.R.

The thyroid hormones . Pergamon Press , 92 , 1959

81 - RALL J. E. , PEARSON O. H. , LIPSETT M.B. , RAWSON R.W.

Jour. Clin. Endocr. Metab. , 16 , 1299-1310 , 1956

82 - RAPPORT D. , CANZANELLI A. , GUILD A.

Endocr. , 38 , 260-1 , 1946

83 - RAWSON R. W. , RALL J. E. , SONENBERG M.

The hormones par G. PINCUS , K. V. THIMANN

3 , 433-520 , 1955

84 - REINWEIN H. SINGER W.

Biochem . Ztsch. , 197 , 152-60 , 1928

85 - REVERDIN

cité par ABELIN dans :

Handb. der norm. und pathol. P hysiol. 16/1 , 97-237 , 1882

86 - RIGGS T. R. , HEGSTED D.M.
Jour. Biol. Chem. , 172 , 539-46 , 1948

87 - RINGLER J.,LEONARD S.L.
Endocr. , 55 , 363-5 , 1954

88 - ROCHE J. , MICHEL R.,TATA J.
C.R. Acad. Sci. , 236 , 1614 , 1953

89 - ROCHE J. , MICHEL R. , TATA J.
C.R. Soc. Biol. , 148 , 1036-40 , 1954

90 - ROCHE J . , MICHEL R. , JOUAN P. , WOLF W.
C.R. Acad. Sci. , 241 , 880 , 1955

91 - ROCHE J. , MICHEL R.
Rec. Progr. Horm. Res. , 12 , 1-20 , 1956

92 - ROCHE J. , MICHEL R. , JOUAN P.
Coll. Ciba. Found. , 10 , 168-82 , 1957

93 - ROCHE J. , MICHEL R. , MICHEL O. , ETLING N.
C.R. Acad. Sci. , 245 , 1089 , 1957

94 - ROCHE J. , MICHEL R. , CLOSON J. MICHEL O.
Biochim. Biophys. Acta. , 33 , 461-70 , 1959

95 - ROHRER A.
Biochem. Ztsch. , 145 , 154-68 , 1924

96 - ROSS M. H. , ELY J. D.
Jour. Franklin Inst. , 258 , 241-31 , 1951

97 - SAUNDERS H.L.,NUSS D. , GREENBERG C.M., ZAVALYDRIGA A., Van LOON E.J.
Proc. Soc. Exptl. Med. , 100 , 61-3 , 1959

98 - SCHNEIDER W. C.
Jour. Biol. Chem. , 176 , 259-67 , 1948

99 - TABACHNICK I. , BONNYCASTLE D. D.
Jour. Biol. Chem. , 207 , 757-61 , 1954

100 - TAUROG A. , CHAIKOFF I. L.

Jour. Biol. Chem. , 171 , 439-40 , 1948

101 - TAUROG A. , BRIGGS F. N. , CHAIKOFF I. L.

Jour. Biol. Chem. 191 , 29-35 , 1951

102 - TAUROG A., BRIGGS F. N. , CHAIKOFF I. L.

Jour. Biol. Chem. , 194 , 655-69 , 1952

103 - TAUROG A. , WHEAT J.D. , CHAIKOFF I.L.

Endocr. , 58 , 121-35 , 1956

104 - THIBAULT O.

Rev. Canad. Biol. , 8 , n° 1 , 1949

105 - THIBAULT O. , PITT-RIVERS R.

Lancet , 1 , 285-6 , 1955

106 - THIBAULT O. , PITT-RIVERS R.

C.R. Soc. Biol. , 149 , 880-85 , 1955

107 - THIBAULT O.

Arch. Sci. Physiol. , 10 , 423-45 , 1956

108 - THIBAULT O.

Arch. Sci. Physiol. , 13 , 1-29 , 1959

109 - TOMICH E. G. , WOOLLETT E.A.

Lancet , 1 , 726 , 1953

110 - TOMITA K. , LARDY H.A. , LARSON F.C., ALBRIGHT E.C.

Jour. Biol. Chem. , 224 , 387-97 , 1957

111 - ULLRICK W.C. , WHITEHORN W.V.

Amer. Jour. Physiol. , 171 , 407-12 , 1952

112 - VARNAI I. , FARKAS M.

Acta Physiol. Hungar. , 15 , 151-61 , 1959

113 - de VISSCHER M. , BECKERS C.

Jour. Physiol. , Paris , 49 , 439-520 , 1957

114 - WAINFAN E. , RITTENBERG S.C., MARX W.

Arch. Biochem. Biophys. , 51 , 519-20 , 1954

115 - WAINIO W.W. , EICHEL B. , EICHEL H.J. , PERSON P. , ESTES F.L., ALLISON J. B.

Jour. Nutr. , 49 , 465-84 , 1953

116 - WEINSTEIN E. J. , LEIN A.

Endocr. , 61 , 79-84 , 1957

117 - WEISS A.K.

Amer. Jour. Physiol. , 185 , 242-3 , 1956

118 - WHALEY R.A. , HART T.M. , KLITGAARD H. M.

Amer. Jour. Physiol. , 196 , 1258-61 , 1959

119 - WILKINSON J. H.

Biochem. Jour. , 73 , 334-40 , 1959

120 - WILLIAMS M. A. , HATA B.

Arch. Biochem. Biophys. , 80 , 367-71 , 1959

121 - WISWELL J. G. , ZIERLER K. L. , FASANO M. B. , ASPER S.P.

Bull. Johns Hopk. Hosp. , 94 , 94-104 , 1954

122 - WISWELL J. G. , ASPER S.P.

Bull. Johns Hopk. Hosp. , 102 , 115-24 , 1958

123 - YAMAZAKII E. , SLINGERLAND D.W.

Endocr. , 64 , 126-35 , 1959

124 - ZUBIRAN Z. , GOMEZ-MONT F.

Vit. Horm. , 11 , 97-133 , 1953

125 - van ZYL A. , ENGELBRECHT F.M.

Jour. Endocr. , 19 , 108-17 , 1959

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Répartition des enzymes de la glycolyse sur les structures de la cellule hépatique normale et cancéreuse chez le Rat.

Vu et approuvé

Paris, le 30 Janvier 1962

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Marc ZAMANSKY

VU

et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

Jean ROCHE